

Untersuchungen zur Leberregeneration nach Leberresektion

Enzymaktivitätsverhalten in der Rattenleber

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Hans Plache

aus Bielefeld/Westfalen

Marburg 1969

Untersuchungen zur Leberregeneration
nach Leberresektion

Enzymaktivitätsverhalten in der Rattenleber

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Hans Plache

aus Bielefeld/Westfalen

Marburg 1969

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg a. d. Lahn am 5.5.1969
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. P. Karlson
Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Ch. Herfarth
Korreferent: Prof. Dr. med. H. Oehmig

INHALTSÜBERSICHT

Seite

1.	<u>Einleitung</u>	1
1.1	Allgemeines	1
1.2	Übersicht über bisherige Arbeiten	2
1.21	Histologische Befunde	2
1.22	Veränderungen einzelner Zellbestandteile	3
1.23	Veränderungen im Aminosäuren- u. Protein- stoffwechsel	4
1.24	Veränderungen im Kohlenhydratstoff- wechsel	4
1.25	Veränderungen im Energiestoffwechsel	5
1.26	Veränderungen der Blutzirkulation	5
1.3	Enzymaktivitätsbestimmungen nach Teil- resektion	6
1.4	Problemstellung	7
2.	<u>Methode</u>	8
2.1	Tiermaterial	8
2.2	Versuchsanordnung	8
2.21	Operationszeit	8
2.22	Narkose	8
2.23	Operationsmethode	8
2.24	Postoperative Behandlung	8
2.25	Überlebenszeit	8
2.3	Untersuchungsmethoden	8
2.31	Aufbereitung des Gewebes	8
2.32	Enzymaktivitätsbestimmungen	9
2.33	Bestimmung des löslichen Proteins	11
2.34	Normalwerte	11
2.35	Körpergewicht der Ratten	11
2.36	Lebergewichte	11
2.37	Kontrolltiere	11
2.38	Methodische Fehlerbreite	11
2.39	Dauer der Arbeit	11
2.4	Statistik	12
3.	<u>Ergebnisse</u>	13
3.1	Allgemeines	13
3.11	Postoperativer Verlauf	13
3.12	Makroskopische Leberbefunde	13
3.2	Enzymaktivität und Proteingehalt	13

	Seite
3.21 Tiere mit und ohne Nahrungskarenz	13
3.22 Allgemeines Verhalten der Enzymaktivität und des Proteingehaltes	13
3.23 GPT, GOT, G1DH	13
3.24 GAPDH, ALD, G-6-PDH, LDH	14
3.25 MDH	14
3.26 SDH	15
3.27 Extraktprotein	15
3.3 Gewichte	15
3.31 Körpergewicht	15
3.32 Lebergewicht	15
3.4 Kontrolltiere	15
4. <u>Diskussion</u>	16
4.1 Allgemeines	16
4.2 Veränderungen einzelner Enzymaktivitäten und des Extraktproteins nach Teilresektion. Der Zeitraum bis zur völligen Restituierung. Vergleich mit den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen	18
4.21 Extraktprotein	18
4.22 GPT, GOT, G1DH	18
4.23 ALD, GAPDH, LDH, G-6-PDH	21
4.24 MDH	23
4.25 SDH	24
4.3 Körper- und Lebergewicht nach Teilhepatektomie	24
4.4 Andere Faktoren, die den Regenerationsablauf beeinflussen	25
4.5 Schlußfolgerungen	25
5. <u>Zusammenfassung</u>	26
6. <u>Literaturübersicht</u>	27

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle Nr.

Veränderungen des Rattengewichtes nach Hemihepatektomie	1
Testansätze	2
Enzymaktivitäten und Proteingehalt in der Rattenleber (Normwerte).	3
Methodische Fehlerbreite	4
Veränderungen der Enzymaktivitäten und des Extractproteins in der Leber nach Hemihepatektomie.	5
Enzymaktivitäten und Proteingehalt scheinoperierter Tiere, 5 Tage nach dem Eingriff	6

Verzeichnis der Abbildungen

Verlauf der Enzymaktivitäten und des Extractproteins in der Restleber nach Hemihepatektomie. Angabe der Aktivitäten in Prozent vom Ausgangswert.	1
--	---

Verzeichnis der in dieser Arbeit gebrauchten Abkürzungen

ADP	= Adenosindiphosphat
ALD	= Aldolase
ATP	= Adenosintriphosphat
BTS	= Brenztraubensäure
Ca ⁺⁺	= Calcium-Ionen
DNA	= Desoxyribonucleinsäure
EDTA	= Äthylendiamintetraessigsäure
FDP	= Fructose-1-6-Diphosphat
g	= Gramm
GAPDH	= Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase
GDH	= α -Glycerophosphatdehydrogenase
g/Fg	= g pro Gramm Frischgewicht
GLDH	= Glutamatdehydrogenase
GOT	= Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	= Glutamat-Pyruvat-Transaminase
G-6-P	= Glucose-6-Phosphat
G-6-PDH	= Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (= ZF)
GSH	= Glutathion - SH
Hg	= Quecksilber
KGS	= α -Ketoglutarensäure
LDH	= Lactatdehydrogenase
M	= Mol, molar
MDH	= Malatdehydrogenase
MgSO 4	= Magnesiumsulfat

NaCl	= Natriumchlorid
NAD	= Nicotinamid-adenin-dinucleotid (früher DPN)
NADH	= reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid (früher DPNH)
NADP	= Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (früher TPN)
NADPH	= reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (früher TPNH)
NH ₄	= Ammonium
O	= Sauerstoff
OA	= Oxalessigsäure
P	= Phosphat
PGK	= Phosphoglycerat-Kinase
3-PGS	= 3-Phosphoglycerinsäure
RNA	= Ribonucleinsäure
SDH	= Sorbitdehydrogenase
TIM	= Triosephosphat-Isomerase
Trap	= Triäthanolamin-Puffer
U, mU	= Units, Milli-Units

1. EINLEITUNG

=====

1.1 Allgemeines

Die Fähigkeit, verlorengegangenes Gewebe zu ersetzen, ist in den einzelnen Gewebsarten unterschiedlich ausgeprägt. Die Regeneration parenchymatöser Organe wird gewöhnlich an der Leber studiert. Zwei Fähigkeiten der Leber erlauben die operative Entfernung einzelner Leberlappen: sie verfügt über große funktionelle Reserven und besitzt eine bemerkenswerte Kraft zur Regeneration, so daß selbst große Verluste schnell ausgeglichen werden. Diese kompensatorische Hypertrophie und Hyperplasie wird im allgemeinen als Regeneration bezeichnet, obwohl die entfernten Lappen nicht neu gebildet werden, sondern ein Wachsen der verbliebenen Lappen stattfindet.

Der klassische Weg zum Studium der Leberregeneration ist die Teilresektion im Tierexperiment. Die Versuche werden vorzugsweise an der Ratte, weniger an Maus und Hund durchgeführt. Damit ist eine Möglichkeit gegeben, aktives Wachstum eines Gewebes zu studieren, und die morphologischen und biochemischen Veränderungen festzustellen. Die Regeneration ist aber auch ein Teil der Reaktion der menschlichen Leber bei Erkrankungen und nach Schädigung durch toxische Substanzen. Hierbei ist jedoch die ganze Leber betroffen und der Regenerationsvorgang von komplexer Natur. Die operative Entfernung eines Leberlappens oder eines Teiles hat in letzter Zeit zur Behandlung von gutartigen und bösartigen Tumoren, entzündlichen parasitären Befunden und nach größeren Verletzungen an Bedeutung gewonnen. (MC. DERMOTT u. MIT. 1963, REIFFERSCHIED 1961, PACK u. MIT. 1962, ENGEVIK u. MIT. 1966, BENGMARK u. MIT. 1965, RYNCKI 1965, TUNG u. QUANG 1965).

1.2 Übersicht über bisherige Arbeiten

Die Regenerationskraft der Leber wurde zuerst im Jahre 1833 von CRUVEILHIER beschrieben. Aufgrund experimenteller Untersuchungen machten PODWYSSOZKI (1886), PONFICK (1889), MEISTER (1894) und FISHBACK (1929) Angaben über die Fähigkeit der Leber zur Regeneration. HIGGINS u. ANDERSON (1931) entfernten Ratten den mittleren und linken Leberlappen, was einer 2/3 Resektion entspricht, und stellten quantitative Messungen an. Sie gaben mit ihrer Methode den Anstoß zu einer großen Reihe von Arbeiten.

Während zuerst die Erfassung der grobmorphologischen Veränderungen im Vordergrund stand, wird in letzter Zeit versucht, anhand von elektronenoptischen Befunden, biochemischen Bestimmungen und Stimulierung mit Pharmaka die Regeneration an sich zu erklären und Kontrollmechanismen aufzudecken. Ausführliche Übersichten über die vielfältigen Änderungen nach Teilresektion und Literaturangaben finden sich bei BUCHER (1963), DERACHE (1964), FISCHER (1959), HARKNESS (1957 u. 1961), LEDUC (1964), LEEVY (1960), POPPER u. SCHAFFNER (1961 u. 1965), SIMEK (1965), WEINBREN (1959).

1.21 Histologische Befunde

Die histologischen Veränderungen der Leberzelle nach Teilresektion geben einige qualitative, jedoch keine quantitativen Hinweise. Mit der Größenzunahme der Leberzelle kommt es postoperativ zu einer Vakuolenbildung. Nach dem 6. Tag postoperativ werden Vakuolen nicht mehr beschrieben. (DAVIS 1962, ATERMANN 1952 und 1961, WEINBREN 1959, PRICE und LAIRD 1950, STOWELL 1948, HRADIL u. MIT. 1965). ATERMANN (1952 u. 1961) führt die Vakuolenbildung auf Sauerstoffmangel zurück und diskutiert als Ursache die Depolymerisation von Zellkomponenten höheren Molekulargewichtes, die zu einem veränderten osmotischen Potential der Zelle und damit zu Wasser-einstrom führen. WEINBREN (1959) dagegen beschreibt die Vakuolen als hyaline Protein-Tropfen.

Bereits in den ersten Stunden nach der Teilresektion kommt es zu Veränderungen an verschiedenen Zellorganellen. Das endoplasmatische Reticulum zerfällt in Fragmente, die Verbindung mit den Ribosomen wird mehr oder weniger gelöst. Häufig tritt eine Beziehung zwischen endoplasmatischem Reticulum und den Mitochondrien auf, die angeschwollen sind und zum großen Teil verschwinden, nachdem sie Änderungen durchgemacht haben. Um- und Abbauvorgänge spielen sich ebenfalls am Golgi-Apparat, an den Gallengängen, an den Nucleolen, an den Kernen und im Disse'schen Raum ab. (BADE 1964a u. 1964b, BECKER u. LANE 1965, BERNHARD u. ROUILLER 1956, BERNHARD 1958, DAVIS 1962, HRADIL u. MIT. 1965, JORDAN 1964, STENGER u. CONFER 1966, TAKAHASHI 1960, VIRAGH u. BARTOK 1966).

Die Wiederherstellung der alten Zellstrukturen wird für die Zeit zwischen dem 3. und 5. Tag angegeben. VIRAGH u. BARTÖK (1966) stellten geringfügige Veränderungen bis zum 20. Tage fest.

Nach BECKER u. LANE (1965, 1966a) sollen Autophagosomen, die in den ersten neun Stunden postoperativ auftreten, bestehende Strukturen zerstören und eine Dedifferenzierung der Zelle bewerkstelligen. Ihr Inhalt - Abbauprodukte von Zellorganellen - könnte der Neusynthese von Stoffen dienen.

ALLARD u. MIT. (1952) fanden einen Abfall der Mitochondrien pro Zelle und pro g Frischgewicht. Während die Zahl der Mitochondrien pro Zelle nach einem Abfall auf ca. 70 % zwar nach acht Tagen noch unter den Ausgangswerten liegt, aber schon wieder zu Normwerten tendiert, bleibt die Zahl der Mitochondrien pro g Frischgewicht auch nach 20 Tagen noch deutlich unter den Werten der Normaltiere und der einen Tag nach Scheinoperation gemessenen Kontrollen. Ein ähnliches Verhalten zeigen junge Ratten. Die gleichen Autoren fanden jedoch später (1957) auch einen Abfall bei scheinoperierten Tieren. GEAR (1965) gibt in seinen Messungen einen Abfall der Mitochondrien an Zahl bzw. Masse nach 10 Tagen an. Die Werte liegen nach 15 Tagen oberhalb der Norm.

2

Veränderungen einzelner Zellbestandteile

Der Wassergehalt pro Lebergewichtseinheit nimmt am ersten und den folgenden Tagen zu. So gibt HARKNESS (1952) einen Anstieg von 71,0 auf 73,9 g/100g Leberfeuchtgewicht an. Ähnliche Werte fanden BENGMARK u. OLSSON (1966). TSUBOI u. MIT. (1954) stellten einen Anstieg bei der Maus nach Teilhepatektomie fest. Lediglich HIGGINS u. ANDERSON (1931) und SZEGO u. ROBERS (1949) geben für den ersten postoperativen Tag einen Abfall des Wassergehaltes an, dem in den folgenden Tagen ein erhöhter Flüssigkeitseinstrom folgt. Im allgemeinen wird angegeben, daß der Wasserhaushalt nach drei Wochen wieder normalisiert ist. (HIGGINS u. ANDERSON 1931, JATROPULOS 1965, PETTINARI 1961).

In den ersten Stunden nach der Teilresektion kommt es zu einem fast völligen Glykogenverlust. Er beginnt periportal. HARKNESS (1952) gibt Normwerte von 3,8 g/100 g Leberfeuchtgewicht an, die nach 10 Stunden bei 0,4 und nach 70 Stunden bei 1,3 g/100g Leberfeuchtgewicht liegen. Der Glykogenverlust wurde von vielen Untersuchern, vor allem histologisch, festgestellt. (z.B. GURD u. MIT. 1948, PETTINARI 1961, THALER u. KISSANE 1966, WALTHER 1965).

Im Gegensatz dazu steht die frühzeitige Anhäufung von Fett, vor allem von Neutralfett, das auf ein Mehrfaches des normalen Wertes ansteigt. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um eine Mobilisation von Fettdépos und nicht um eine Synthese in der Leber. (BUCHER 1963). Die Fettanhäufung erreicht ihren Höhepunkt am ersten bis zweiten Tag und verschwindet dann

langsam. Normwerte werden für die Zeit zwischen dem 14. und 21. Tag angegeben. (SANCHEZ u. MIT. 1961, TSUBOI u. MIT. 1954, HARKNESS 1952, STOWELL 1948, PETTINARI 1961, FERRARI u. HARKNESS 1954, WALTHER 1965, MAROS u. MIT. 1965, CLERICI u. MIT. 1964).

1.23 Veränderungen im Aminosäuren- u. Proteinstoffwechsel

Der Gehalt an freien Aminosäuren - wenn auch nicht aller - nimmt am ersten Tag nach der Teilresektion zu. Markierte Aminosäuren werden in geringerem Ausmaß zu CO_2 oxydiert, dagegen ist die Einbaurrate der Aminosäuren in das Leberprotein erhöht. Die Stickstoffbilanz ist gestört. (BRAUN 1962, FERRARI und HARKNESS 1954, CHRISTENSEN u. MIT. 1948, RAINA und RAMAKRISHNAN 1964, STAIB u. MILLER 1964a u. 1964b, CLERICI u. MIT. 1960, 1964 u. 1965, GUIDOTTI u. MIT. 1959, HAMMARSTEN u. MIT. 1956, CASSAN u. DERACHE 1965, HOAGLAND 1961 u. 1964, DECKEN u. HULTIN 1958 u. 1960, HULTIN u. DECKEN 1957).

Die Befunde werden als Beweis für einen verminderten Proteinabbau und eine gesteigerte Synthese gewertet. Durch einen verzögerten und verminderten Abbau stehen die Aminosäuren der Proteinsynthese in größerem Ausmaß zur Verfügung. Dabei werden zuerst die Enzyme gebildet, die zur Bereitstellung neuer Nucleinsäuren dienen. Für gewisse Veränderungen dürften aber auch Operationsfolgen und unzureichende Nahrungsaufnahme postoperativ verantwortlich sein. Die Ergebnisse werden durch die im Laufe des ersten Tages einsetzende gesteigerte Synthese von Nucleinsäuren bestätigt. Während die Aktivitäten der am Nucleinsäurenaufbau beteiligten Enzyme um ein Vielfaches in den ersten zwei bis drei Tagen zunehmen, ist die Fähigkeit der Leber, Uracil und Thymin abzubauen, für 96 Stunden teilweise erheblich herabgesetzt. (BUCHER u. SWAFFIELD 1965, BUCHER 1966, TSUKADA u. MIT. 1964a, 1964b u. 1965, SAKAMATO 1966, FRITZSON 1962 u. 1964, Übersicht bei BUCHER 1963, DERACHE 1964).

1.24 Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel

Nach SIEBERT u. MIT. (1961) nimmt die Gesamtglykolyse im Cytoplasma in den ersten 48 Stunden beträchtlich ab, dagegen steigt die Glykolyse in den Zellkernen, wesentlich jedoch nur nach 12 und 16 Stunden. (bezogen auf g Trockengewicht). ESCHBACH und HANKE (1958) geben dagegen über einen langen Zeitraum keine signifikanten Veränderungen der aeroben Glykolyse von der Norm an, die Werte am ersten und zweiten Tag liegen allerdings im unteren Normbereich. Angaben über die anaerobe Glykolyse schwanken. DERACHE und MIT. (1964) geben einen Anstieg nach zwei Stunden und eine geringfügige Erhöhung nach 24 Stunden an. ESCHBACH u. HANKE (1958) berichten von einer Herabsetzung am ersten Tag, der ein Anstieg von 100 - 200 % zwischen dem dritten und 40. Tage postoperativ folgt. FORNI u. FILIPAZZI (1964a) geben beträchtlich erhöhte Werte vier Tage nach der Teilresektion an. Nach acht Tagen sind die Werte noch nicht wieder zu Ausgangswerten zurückgekehrt. Nach BURK dagegen hat die Leber nach Teilresektion keine wesentliche anaerobe Gärung.

SIMEK u. MIT. (1965a u. 1965b) stellten nach Glucosezufuhr in vivo und in vitro eine verminderte Fähigkeit der Leber fest, Glucose, in großen Mengen angeboten, zu verwerten. Die Regeneration war nach den Glucosegaben verzögert. Die Autoren weisen darauf hin, daß die Leber nach Teilhepatektomie ihre Energie vorwiegend aus der Fettverwertung bezieht.

1.25

Veränderungen im Energiestoffwechsel.

ORESHNIKOVA u. MIT. (1966) stellten nach partieller Hepatektomie einen Abfall des P/O Quotienten an isolierten Mitochondrien fest, der Ausdruck der oxydativen Phosphorylierung ist. Am zweiten Tag ist die Atmung von der Phosphorylierung entkoppelt. Der P/O Wert liegt am 7. Tag postoperativ bei 0,90, gegenüber 1,82 als Normwert. Weiterhin reagieren die Mitochondrien der regenerierenden Rattenleber gegenüber Ca^{++} Ionen sensibler als normale Mitochondrien. Eine Erniedrigung des P/O Quotienten wird ebenfalls von CLERICI u. MIT. (1960) und PALLADINA u. GUDINA (1958) beschrieben. Der herabgesetzten Funktionslage der Mitochondrien entspricht auch ein verminderter Proteingehalt der Strukturen. (GEAR (1965), ORESHNIKOVA u. MIT. 1966).

1.26

Veränderungen der Blutzirkulation.

Die Blutzufuhr zur Leber nach der Teilresektion ist dadurch gekennzeichnet, daß das gleiche Blutvolumen der Pfortader jetzt ein viel kleineres Bett zu durchströmen hat. Die Folge ist ein erhöhter portaler Druck und ein höherer Blutfluß pro Gewichtseinheit. Die Verhältnisse normalisieren sich nach 5 Tagen. (BENACERRAF u. MIT. 1957, MENYHART u. SIMON 1966, GRINDLAY u. BOLL-MANN 1952). HARKNESS (1952) stellte bei Messungen des Blutraumes einen Abfall von 6,7 ml / 100 g Leberfrischgewicht auf 5,4 nach 24 Stunden und 3,8 nach 48 Stunden fest. 70 Stunden postoperativ war der Wert wieder auf 4,2 ml / 100 g Leberfrischgewicht gestiegen, lag damit aber noch beträchtlich unter Ausgangswerten. Der Extravasculärraum lag dagegen nach einem Abfall 24 Stunden postoperativ nach 70 Stunden wieder im Normbereich. FERRARI und HARKNESS (1954) stellten eine Verminderung des Gesamtextracellulärspaces von 18,1 auf 11,8 ml / 100 g Frischgewicht fest und STOWELL (1948) gibt für das Gewebe des Gefäßsystems Werte an, die zwischen 6 und 48 Stunden weit unterhalb der Norm liegen. BENGMARK u. OLSSON (1964) fanden, daß die arteria hepatica drei Monate braucht, um ihren Gefäßbaum zu regenerieren. Nach dieser Zeitspanne hat die vena portae ihre alte Größe und Ausbreitung noch nicht wieder erreicht.

Die ersten Befunde werden so gedeutet, daß durch den erhöhten Druck und den schnelleren Durchfluß kein genügendes Sauerstoffangebot und keine ausreichende Aufnahme der Stoffwechselprodukte gewährleistet ist. CLERICI u. MIT. (1964) glauben, daß es durch das verkleinerte Gefäßbett und die damit verminderte Blut-

zirkulation zur Hypoxämie und damit zur Vakuolenbildung kommt. Nekrosen sind jedoch nur von YOKOHAMA u. MIT. (1953) bei der Maus drei Tage nach teilweiser Hepatektomie im mittleren Drittel der Leberläppchen beschrieben worden.

1.3 Enzymaktivitätsbestimmungen nach Teilresektion

Im Vergleich zu anderen Untersuchungen nehmen Enzymaktivitätsmessungen nach partieller Leberresektion bei der Ratte einen bescheidenen Rahmen ein, obwohl sie ein sehr spezifisches Zustandsbild von der Stoffwechsellage der Zelle geben. Außerdem sind die Enzymaktivitätsbestimmungen meist nur über einen kurzen Zeitraum durchgeführt worden.

Die Arbeitsgruppe um BENGMARK u. OLSSON (1963a, 1963b, 1963c, 1964, 1966, 1967) untersuchte in einer Reihe von Arbeiten das Verhalten von GPT, in einer Arbeit auch von GOT. Ebenfalls Enzyme des Aminosäurenstoffwechsels bestimmten DESSI u. GIANNI (1957), GAVOSTO u. MIT. (1957), GREENBAUM u. MIT. (1954), NAKATA u. MIT. (1964), RAINA u. RAMAKRISHNAN (1964), RINDI u. MIT. (1955), TISZAI u. TENYI (1960), WU (1964), FORNI u. FILIPAZZI (1964), SANCHEZ u. MIT. (1961).

GAVOSTO u. MIT. (1957), RAINA u. RAMAKRISHNAN (1964) SIEBERT u. MIT. (1961), STEPANOVA (1964), SYDOW (1964), THALER u. KISSANE (1966), WEBER u. CANTERO (1955, 1956, 1957 und 1959), DECKEN u. HULTIN (1960), DERACHE u. MIT. (1964), BARTÓK u. MIT. (1963), FORNI u. FILIPAZZI (1964), LANCKER u. SEMPOUX (1958) und SANCHEZ u. MIT. (1961) maßen Enzyme nach Teilresektion, die am Kohlenhydratstoffwechsel beteiligt sind. Enzyme des Tricarbonsäurezyklus wurden von BARTÓK u. MIT. (1963), GEAR (1965), NOVIKOFF u. POTTER (1948), FORNI u. FILIPAZZI (1964), SANCHEZ u. MIT. (1961), PEARSON u. MIT. (1959), NELSON u. BURGH (1958) und TSUBOI u. MIT. bestimmt. Schließlich untersuchten BARTÓK u. MIT. (1963), CRANDALL u. DRABKIN (1946), GEAR (1965), GREENSTEIN (1954), LANCKER u. SEMPOUX (1958), NOVIKOFF u. POTTER (1948) und PERKINSON u. IRVING (1956) Enzyme der Atmungskette.

1.4 Problemstellung

Aufgabe dieser Arbeit war es

1. den Funktionszustand der Leber nach Teilresektion an dem Verhalten einiger Enzymaktivitäten festzustellen,
2. die Enzymaktivitäten über einen längeren Zeitraum zu beobachten, um die Zeitspanne bis zur Wiederherstellung der Ausgangswerte zu erfassen und
3. die Veränderungen der Enzymaktivitäten mit anderen Befunden nach Teilresektion zu vergleichen.

Für unsere Versuche wählten wir folgende Enzyme: GPT, GOT, G1DH, ALD, GAPDH, G-6-PDH (=ZF), LDH, MDH und SDH. Weiter bestimmten wir den Gehalt an löslichem Protein sowie Leber- und Körpergewicht.

2. M E T H O D E

=====

2.1 Tiermaterial

Als Versuchstiere dienten weiße weibliche Ratten eines Inzuchtstammes⁺ mit einem Gewicht von 237 ± 33 g. Die Tiere wurden mit Wasser und Trockenfutter Altromin (R)⁺⁺ ernährt. Bis kurz vor der Operation hatte der größte Teil der Tiere freien Zugang zu Wasser und Futter, einigen Tieren wurde 14-16 Stunden vor dem Eingriff das Futter entzogen. (Tab.1).

2.2 Versuchsanordnung

2.21 Operationszeit

Die Tiere wurden morgens in der Zeit zwischen 9 und 11 Uhr operiert.

2.22 Narkose

Als Narkotikum diente Äther. (Mittlere Narkosetiefe).

2.23 Operationsmethode

Eröffnung des Abdomens durch beidseitigen Rippenbogenrandschnitt. Unterbindung beider arteriae mammae int. Anschließend Freilegung der Leber und Durchtrennung des ligamentum falciforme hepatis. Die linke Leberhälfte wird nahe am Hilus umschlungen. Vor Abbindung erfolgt Entnahme eines Gewebestückes zur Bestimmung von ATP und Glykogen. (s. Stremmel). Dann werden der linke laterale, die linke Seite des medialen und der linke caudale Lappen reseziert. Verschluss der Bauchdecken erfolgt durch Muskel- und Hautnaht. Dauer des Eingriffes 10-15 Minuten.

2.24 Postoperative Behandlung

Postoperativ hatten die Tiere sofort wieder freien Zugang zu Wasser und Futter. Die ersten 24 Stunden nach dem Eingriff wurden die frischoperierten Tiere in einem separaten Käfig gehalten.

2.25 Überlebenszeit

Wir unterteilten die Tiere in 6 Gruppen. Im zeitlichen Abstand von 24 Stunden, 48 Stunden, 5, 10, 20 und 40 Tagen erfolgte die Resektion der Restleber in Äthernarkose.

2.3 Untersuchungsmethoden

2.31 Aufbereitung des Gewebes

Sofort nach Entnahme befreiten wir das Lebergewebe mit Filterpapier von größeren Blutbeimengungen und wogen es auf einer Präzisions-Schnellwaage.⁺⁺⁺ Eine Gewebeprobe von ca. 100 mg gelangt zur Analyse. Aufschließung des Gewebes erfolgte in 0,04 ml 0,15 M NaCl/mg Leberfeuchtgewicht durch 2 min. Homogenisieren (Stoppuhr) unter

+ (Versuchstierzucht IVANOVAS, Kisslegg/Allgäu)

++ (Firma Altropp, Lage/Lippe)

+++ (Firma A. Sauter KG, Ebingen/Württ.)

Gruppe	1	2	3	4	5	6
Überlebenszeit x	1	2	5	10	20	40 Tage
n	11	10	6	9	5	7

I. Tiere ohne Nahrungskarenz

Rattengewicht vor Op. in g	259 22	228 9	243 14	228 18	252 20	235 6
Rattengewicht nach x Tagen	244 18	222 8	233 19	222 25	258 18	259 11
in % vom Ausgangswert	94,1 3,5	97,5 5,5	95,9 4,8	97,4 9,3	102,7 7,4	110,4 5,2

II. Tiere mit Nahrungskarenz von 14 - 16 Stunden

n	10	14
Rattengewicht vor Op. in g	202 23	247 54
Rattengewicht nach x Tagen	244 22	295 41
in % von Ausgangswert	121,5 11,5	122,6 19,6

Tab. 1: Veränderungen des Rattengewichtes nach Hemihepatektomie

Kochsalz-Eiskühlung mit dem Ultra-Turrax.⁺ Anschließend bewahren wir das Homogenat für 20 - 30 min. im Eisschrank bei 4° C auf. Danach Abtrennung des Überstandes durch 20 min. Zentrifugieren bei 4° C und 18000 g. Der klare Überstand wurde in ein vorgekühltes Gefäß dekantiert. Homogenat-Überstand, Hilfsfermente und Substrate wurden während der gewöhnlich nicht länger als 6 Stunden dauernden Messungen bei 4° C im Eisbad oder Eisschrank gehalten.

2.32 Enzymaktivitätsbestimmungen

Die Enzymaktivitäten wurden im optischen Test nach WARBURG (1935 und 1948) und BEISENHERZ u. MIT. (1953) gemessen. Photometer Eppendorf, Hg Filter, Wellenlänge 366 m μ , Meßtemperatur 25° C. Ablesung von ΔE alle 30 s über einen Zeitraum von 3 - 4 Minuten. Aus den gemessenen Werten $\Delta E/\text{min}$ im linear ablaufenden Bereich der Reaktion wird der Mittelwert gebildet und geht in die Berechnung ein. Messung der Enzymaktivitäten in Doppelbestimmungen.

Die Messung der einzelnen Enzymaktivitäten erfolgte in Ansätzen nach SCHMIDT, E. und SCHMIDT, F.W. (1963). Es handelte sich dabei um eine Modifikation nach KAR-MEN (1955), WROBLEWSKI und LA DUE (1956), KUBOWITZ und OTT (1943), HOLZER u. MIT. (1955), OCHOA (1958), BEISENHERZ und MIT. (1953).

Indikator für die Reaktionen ist die Oxydation von NADH zu NAD⁺ und die damit verbundene Abnahme der Lichtabsorption bei 366 m μ . Die Oxydation von NADH ist dem Substrat-Umsatz direkt proportional bei Bestimmung von G1DH, LDH, MDH, SDH und GAPDH. Zur Bestimmung von GOT, GPT und ALD wird die spezifische Reaktion mit einer weiteren Reaktion gekoppelt. (sog. Indikatorreaktion). Das Indikator-Enzym ist eine NAD-abhängige Dehydrogenase. Bei der Bestimmung von G-6-PDH ist die Bildung von NADPH ein Maß für die Enzymaktivität.

Die einzelnen Ansätze:

G O T

α -Ketoglutarat + Aspartat $\xrightleftharpoons{\text{GOT}}$ L-Glutamat + Oxalacetat
Oxalacetat + NADH + H⁺ $\xrightleftharpoons{\text{MDH}}$ Malat + NAD⁺

1. Start mit Homogenat-Überstand.

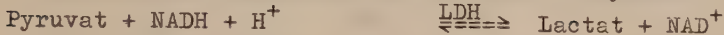
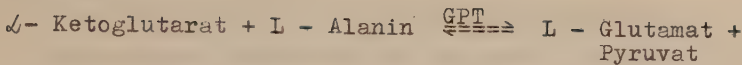
Die im Gewebe enthaltene G1DH reagiert mit α -Ketoglutarat und NADH unter NADH Verbrauch. Nach 3 - 6 Minuten wird die Reaktionsgeschwindigkeit konstant.

2. Start mit Aspartat.

Die gemessene G1DH - Aktivität wird von der Aktivität der GOT abgezogen.

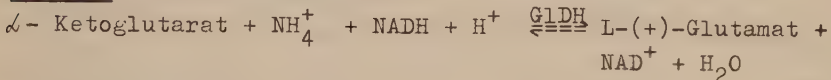
+ (Firma Janke und Kunkel, Staufen/Breisgau)

G P T



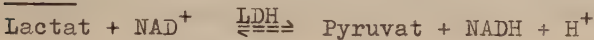
1. Start mit Homogenat-Überstand (s. unter GOT)
2. Start mit Alanin

G L D H



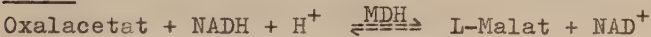
Start mit $\alpha\text{-Ketoglutarat}$.

L D H



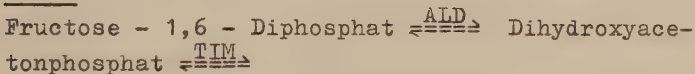
Start mit Pyruvat

M D H

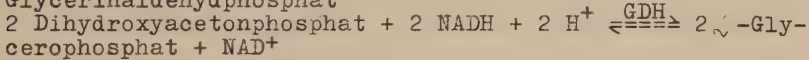


Start mit Oxalacetat.

A L D

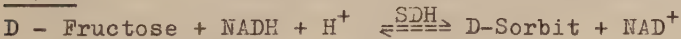


Glycerinaldehydphosphat



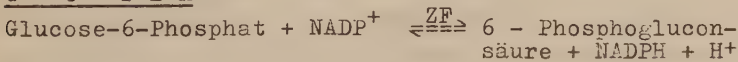
Start mit FDP.

S D H



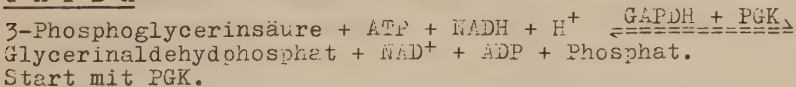
Start mit Fructose.

G - 6 - P D H



Start mit G - 6 - P.

G A P D H



Start mit PGK.

Gesamtvolumen der Testansätze 1 ml, pH 7,5, Schichtdicke der Küvetten 10 mm. Konzentration und Volumina der einzelnen Ansätze in Tab. 2.
Angabe der Enzymaktivität in U bzw. mU/g Leber-Frischgewicht. 1 U = Umsatz von 1 Mikromol Substrat/Min. bei 25° C.

1. Volumina in ml.

	ALD	GAPDH	GOT	GPT	GLDH	LDH	MDH	SDH	G-6-PDH
Alanin				0,20					
Ammoniumacetat					0,005				
Aspartat			0,05						
ATP		0,10							
BTS						0,015			
EDTA					0,025				
FDP	0,05								
Fructose								0,20	
G-6-P									0,025
GDH/TIM	0,01								
GSH		0,025							
Homogenat-Überstand	0,05	0,01	0,01	0,025	0,01	0,01	0,01	0,025	0,10
KGS			0,02	0,025	0,025				
LDH				0,025					
MDH			0,025						
MgSO ₄		0,005							
NADH	0,02	0,02	0,03	0,025	0,015	0,025	0,02	0,025	
NADPH									0,05
OA							0,02		
PGK		0,01							
3-PGS		0,10							
P.P.o.T.			0,865	0,70					
Trap mit T.	0,87	0,73							0,825
Trap o.T.					0,92	0,95	0,95	0,75	
	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

2. Konzentrationen bzw. Molarität der Lösungen

Alanin $8,4 \cdot 10^{-1}$ M; Ammoniumacetat 3,0 M; Aspartat 1,0 M; ATP $3,0 \cdot 10^{-2}$ M; BTS $1,0 \cdot 10^{-1}$ M; EDTA $3,3 \cdot 10^{-1}$ M; FDP $3,4 \cdot 10^{-2}$ M; Fructose 1,25 M; G-6-P $1,9 \cdot 10^{-2}$ M; GDH/TIM: Lösung 1:1*; GSH $5,0 \cdot 10^{-2}$ M; KGS $5,0 \cdot 10^{-1}$ M; LDH: Lösung 1:10*; MDH: Lösung 1:10*; MgSO₄ $5,0 \cdot 10^{-1}$ M; NADH $1,3 \cdot 10^{-2}$ M; NADPH $4,7 \cdot 10^{-3}$ M; OA $2,3 \cdot 10^{-4}$ M; PGK: Lösung 1:10*; 3-PGS $3,0 \cdot 10^{-2}$ M; P.P. o.T. $1,0 \cdot 10^{-1}$ M; Trap. mit T. $5,0 \cdot 10^{-2}$ M; Trap o.T. $5,0 \cdot 10^{-2}$ M.

*Lösungen der Firma C.F. Boehringer & Söhne, Mannheim.

GDH/TIM 2mg pro 1,0 ml. Lösung

LDH 25 mg pro 5,0 ml. Lösung

MDH 25 mg pro 2,5 ml. Lösung

PGK 10 mg pro 1,0 ml. Lösung

Lösungen wurden mit aqua bidest. verdünnt, wie oben angegeben.

2.33 Bestimmung des löslichen Proteins

Das lösliche Protein im Homogenat-Überstand wurde nach der Biuret-Methode bestimmt. (WEICHSELBAUM 1946, modifiziert nach BEISENHERZ und MIT. 1953).

Testansatz:

2,45 ml 0,15 M NaCl; 0,05 ml Homogenat-Überstand; 2,5 ml Biuret-Reagenz; 30 Minuten stehen lassen, dann Extinktion messen in 20 mm Küvetten mit Hg - Filter, Wellenlänge 546 m gegen die Blindprobe. (2,5 ml NaCl; 2,5 ml Biuret-Reagenz).

$E \times 6,8 = \text{mg lösliches Protein/g Leber - Frischgewicht.}$

2.34 Normalwerte

Die Normalwerte sind in Tabelle 3 aufgeführt. Es sind Mittelwerte der Enzymaktivitäten und des Proteingehaltes von Leberproben, die bei der Teilresektion gewonnen wurden.

2.35 Körpergewicht der Ratten

Vor der Operation und bei Resektion der Restleber wurden die Ratten gewogen. (Tab. 1)

2.36 Lebergewichte

Das resezierte Lebergewebe sowie die Restleber bei Tötung wurden nach Abtupfen mit Filterpapier gewogen. BUCHER (1963) gibt prozentuale Werte für die einzelnen Lappen an. Danach beträgt die Größe des linken Leberlappens 30 % und die des mittleren Leberlappens 38 % der Gesamtleber. Die caudalen Anteile machen 10 % aus. Danach ergibt sich für unsere Methode eine Resektion von rund 50 %. Versuche zur Feststellung des Verhältnisses von Leber- zu Körpergewicht wurden nicht ausgeführt. Dies Verhältnis ist von Geschlecht, Ernährung, Alter und Gewicht der Ratten abhängig und liegt breitgestreut um 3,5 %. (HIGGINS u. ANDERSEN 1931, BENGMARK u. OLSSON 1963, KRAFT u. STICKL 1954, WEBER u. CANTERO 1955, JATROPULOS 1965, SAKAMATO 1966).

2.37 Kontrolltiere

Einer Gruppe von 6 Tieren wurde lediglich das Abdomen eröffnet und das Ligamentum falciforme hepatis durchtrennt. Nach 10 Minuten Verschluss der Bauchdecken. Fünf Tage nach diesem Schein-Eingriff wurden Enzyme und Protein im Lebergewebe bestimmt.

2.38 Methodische Fehlerbreite

Zu Beginn und am Ende der Arbeit wurde mit Hilfe von Doppelbestimmungen die Fehlerbreite für die Bestimmung der einzelnen Enzyme im Rattenlebergewebe ermittelt. (Tab. 4).

2.39 Dauer der Arbeit

Die Arbeiten wurden von November 1966 bis April 1967 ausgeführt.

Enzym	n	U/g Fg	s	s in %
A L D	80	7,793	± 0,80	± 10,3
G A P D H	68	97,423	± 16,40	± 16,9
G L D H	81	35,784	± 5,64	± 15,7
G O T	79	100,059	± 11,85	± 11,8
G P T	73	14,109	± 3,52	± 25,0
L D H	80	332,543	± 51,47	± 15,4
M D H	75	470,902	± 46,31	± 9,9
S D H	80	16,917	± 3,01	± 17,8
G - 6 -PDH	69	4,133	± 1,85	± 45,0
Extrakt- protein	82	111,8 mg/g Fg	± 20,1	± 18,0

Tab. 3: Enzymaktivitäten und Proteingehalt in der Rattenleber
(Normwerte).

Fehlerbreite

1) vor Beginn der Experimente

Enzym	Anzahl der Doppel- bestimmungen	Mittlerer Fehler in % des Mittelwertes
A L D	10	2,3
G A P D H	10	2,1
G O T	10	4,4
G P T	10	4,5
G l D H	10	3,6
L D H	10	2,2
M D H	10	3,6
S D H	10	2,6
G-6-PDH	10	1,7
Extraktprotein	10	2,8

2) nach Abschluß der Experimente

A L D	10	0,9
G A P D H	10	2,2
G O T	12	3,6
G P T	10	3,2
G l D H	10	3,7
L D H	10	2,8
M D H	12	2,9
S D H	10	2,2
G-6-PDH	10	1,1
Extraktprotein	12	3,9

Tab. 4: Methodische Fehlerbreite

2.4 Statistik

Durchschnitt, Streuung und Signifikanz wurden nach den Formeln von GEBELEIN und HEITE (1951) berechnet.

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

$\bar{x}$ = Durchschnitt
 x_i = Meßwert
 n = Anzahl der Messungen

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}}$$

s = Streuung des Kollektivs
 $\bar{x}$ = aufgerundeter Mittelwert

$$q = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_2} + \frac{s_2^2}{n_1}}}$$

Vergleich zweier Mittelwerte

$$z = 3 + \frac{10}{n_1 + n_2}$$

ist $q > z$, so ist der Unterschied zwischen zwei Mittelwerten signifikant.

3. ERGEBNISSE

3.1 Allgemeines

3.11 Postoperativer Verlauf

Die Tiere überstanden den Eingriff im allgemeinen gut. Die postoperative Mortalität lag unter 8 Prozent.

3.12 Makroskopische Leberbefunde

Bei den Tieren mit 24 und 48 Stunden Überlebenszeit fanden wir bei Tötung eine gelblich schimmernde Restleber. In den anderen Gruppen waren die verbliebenen Leberlappen zum Teil erheblich gegenüber der Norm verdickt, sonst jedoch unauffällig: Farbe dunkel rot-braun, Oberfläche glatt.

3.2 Enzymaktivität und Proteingehalt

3.21 Tiere mit und ohne Nahrungskarenz

Es bestand kein Unterschied zwischen beiden Gruppen im Enzymaktivitäts- und Proteinverhalten. Die Tiere sind deshalb nicht getrennt aufgeführt.

3.22 Allgemeines Verhalten der Enzymaktivität und des Proteingehaltes

Die Aktivität aller gemessenen Enzyme - mit Ausnahme der LDH - und der Proteingehalt fielen in den ersten Tagen postoperativ ab. Der Abfall ist verschieden stark ausgeprägt. Es bestehen Unterschiede im zeitlichen Verlauf bis zur völligen Restitution. (Abb.1, Tab.5).

3.23 G P T , G O T , G L D H

GPT weist von allen gemessenen Enzymaktivitäten den deutlichsten Abfall auf. Bereits nach 24 Stunden sinkt die Aktivität auf 70 % des Ausgangswertes ab. Sie liegt nach 48 Stunden bei 55 % und erreicht in unserer Versuchsserie nach 5 Tagen ihren tiefsten Punkt mit 34 % des Ausgangswertes. Der Abfall vom 2. zum 5. Tag ist signifikant. Es folgt ein signifikanter Enzymaktivitätsanstieg bis zum 10. Tag. Die Aktivität liegt jedoch nach 20 Tagen noch deutlich unterhalb der Ausgangswerte und kehrt erst nach 40 Tagen zu Normwerten zurück.

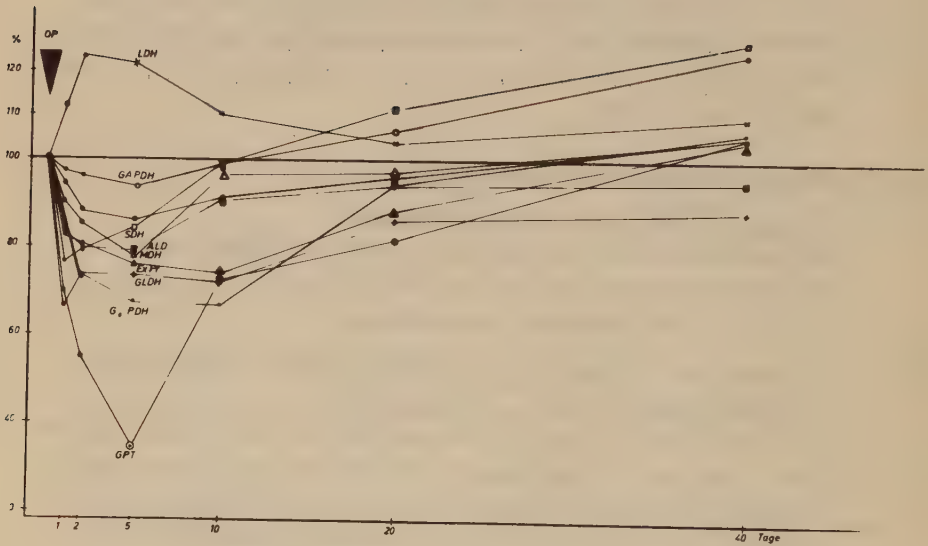


Abb. 1: Verlauf der Enzymaktivitäten und des Extraktproteins in der Restleber nach Hemihepatektomie. Angabe der Aktivitäten in Prozent vom Ausgangswert. Bezugswerte und Einzelheiten der statistischen Berechnung mit Signifikanznachweis in Tabelle 5.

Gruppe	1	2		3		4		5		6	
		Überlebenszeit		10-11		10		6-12		15-21	
n	10-11	2	2	10	10	6-12	6-12	15-21	15-21	6-7	40 Tage
	A	△%	A	△%	A	△%	A	△%	A	△%	A
ALD	7,7	83,4	7,8	<u>79,8</u>	8,0	<u>79,0</u>	7,6	<u>90,7</u>	8,0	94,1	7,8 95,0
	s ±	1,1 9,7	0,5 7,1		0,9 17,3		0,8 7,0		0,7 5,5		0,7 13,2
GAPDH	107,5	97,0	114,2	96,0	100,5	93,7	94,4	99,0	84,2	106,8	95,8 <u>124,3</u>
	s ±	12,5 6,6	9,7 8,1		7,8 12,4		14,4 14,4		15,5 16,6		11,5 7,6
GLDH	36,4	<u>68,4</u>	35,5	<u>73,7</u>	35,3	<u>73,6</u>	36,6	<u>72,0</u>	35,5	86,1	35,2 88,4
	s ±	5,2 10,7	4,0 12,1		5,1 12,6		7,2 13,4		4,6 18,8		8,4 14,5
GOT	94,2	94,2	94,1	88,2	102,8	86,4	104,6	91,3	100,8	95,9	97,8 105,5
	s ±	10,0 7,0	11,2 5,9		10,3 15,6		12,4 10,3		11,7 10,5		13,8 6,1
GPT	14,5	<u>69,7</u>	14,1	<u>54,9</u>	14,8	<u>34,3</u>	11,9	<u>72,2</u>	15,5	81,8	15,2 105,1
	s ±	3,3 9,4	3,1 7,9		2,2 8,3		3,8 11,2		3,5 11,6		4,0 19,2
LDH	324,8	112,0	340,0	<u>123,4</u>	359,1	<u>121,6</u>	338,7	110,2	300,6	103,9	337,6 109,8
	s ±	44,5 10,5	24,3 7,6		42,1 15,1		55,5 17,4		49,2 12,7		72,1 8,0
MDH	480,4	88,1	480,0	<u>85,2</u>	471,1	<u>77,6</u>	456,5	96,4	474,2	97,3	462,6 105,1
	s ±	33,4 10,5	36,0 7,4		46,2 13,9		54,9 11,6		42,6 9,6		72,9 8,8
SDH	16,5	<u>76,4</u>	21,0	<u>79,1</u>	16,9	84,2	17,1	99,0	15,0	111,7	15,9 <u>126,8</u>
	s ±	1,5 14,5	3,1 7,6		3,7 24,1		2,7 12,3		1,4 15,7		1,4 6,6
G-6-PDH	6,0	85,0	4,4	73,0	3,3	67,2	3,9	<u>66,6</u>	3,2	94,3	4,4 106,2
	s ±	3,1 12,5	1,5 17,9		1,3 15,8		1,1 22,9		1,1 37,4		1,1 33,1

Gruppe	1	2	3	4	5	6
Überlebenszeit	1	2	5	10	20	40 Tage
n	10-11	10	6-12	15-21	15-19	6-7
	A	A	A	A	A	A
	%	%	%	%	%	%
Extraktprotein	107,0	108,5	106,3	118,8	115,8	106,9
s ±	10,0	16,4	16,3	20,8	27,3	17,8
	82,3	74,8	75,9	73,8	88,5	104,7
	12,6	11,6	13,5	16,8	22,4	17,8

Tab.: 5. Veränderungen der Enzymaktivitäten und des Extraktproteins in der Leber nach Hemihepatektomie. (A: Ausgangsaktivität bzw. mg Extraktprotein/g Fg.) %: Veränderung der Aktivität bzw. der Extraktproteinkonzentration zum Ausgangswert. []: Signifikante Differenz.

GOT weist geringfügige Änderungen auf. Nach 5 Tagen liegen die Mittelwerte fast 15 % unter den Ausgangswerten. Der Abfall ist jedoch nicht signifikant. 10 bis 20 Tage postoperativ werden Ausgangswerte erreicht.

Auffallend für die G1DH ist der nahezu unveränderte Aktivitätsgrad zwischen zweitem und zehntem Tag postoperativ, nachdem die Aktivität nach 48 Stunden um mehr als 25 % (signifikant) unter den Ausgangswerten lag. In diesem Zeitraum weist die G1DH ein gleiches Verhalten wie der Proteingehalt auf. Nach 20 und 40 Tagen liegt die G1DH noch deutlich, wenn auch nicht signifikant, unter Ausgangswerten.

3.24 GAPDH, ALD, G-6PDH, LDH

GAPDH zeigt in den ersten Tagen postoperativ nur unwesentliche Veränderungen. Nach 40 Tagen verzeichnet das Enzym einen Aktivitätsanstieg und erreicht 125 % der Ausgangswerte (signifikant).

ALD weist einen signifikanten Aktivitätsverlust bis zum 10. Tag auf. Der Abfall beträgt dann jedoch nur noch knapp 10 %. Nach 20 Tagen liegen die Werte wieder im Normbereich.

G-6-PDH verhält sich zwischen dem 2. und 10. Tag wie der Proteingehalt. Nach einem Abfall 48 Stunden postoperativ bleibt der Aktivitätsgrad nahezu unverändert. Nach dem 10. Tag steigt sie schnell an und erreicht nach 20 Tagen Normwerte.

Als einziges der gemessenen Enzyme weist die LDH postoperativ einen Anstieg ihrer Aktivität auf. (nach 48 Stunden und 5 Tagen signifikant zum Ausgangswert). Die Werte kehren nach 20 Tagen wieder in den Normbereich zurück.

3.25 M D H

MDH fällt verhältnismäßig geringfügig ab. Der Abfall erreicht sein Maximum am 5. Tag und liegt bei 80 % der Ausgangswerte. Bereits am 10. Tag werden Normwerte erreicht.

3.26 S D H

Kennzeichnend für dieses Enzym ist der deutliche, signifikante Aktivitätsanstieg nach 40 Tagen und der signifikante Abfall nach bereits 24 Stunden. Nach 10 Tagen erreicht das Enzym die Ausgangslage.

3.27 Extraktprotein

Der Gehalt an löslichem Eiweiß sinkt in den ersten beiden Tagen auf unter 80 % des Normwertes ab. Er hält sich auf diesem Niveau bis zum 10. Tag. Nach 20 Tagen liegen die Werte weit gestreut im unteren Normbereich.

3.3 Gewichte

3.31 Körpergewicht

Tiere, die vor der Operation 14 - 16 Stunden ohne Futter gehalten wurden, hatten nach 10 Tagen das Ausgangsgewicht überschritten. Tiere ohne Nahrungskarenz wiesen nach 10 Tagen noch ein geringgradiges Gewichtsdefizit auf. (Tab. 1)

3.32 Lebergewicht

Berechnet auf eine Resektion von 50 %, kommt es in den ersten Tagen postoperativ zu einer starken Gewichtszunahme. Nach 5 Tagen erreicht die Leber gut 80 % ihres Ausgangsgewichtes. Nach 10 Tagen haben die meisten, nach 20 Tagen alle Tiere das Ausgangsgewicht überschritten.

3.4 Kontrolltiere

6 Kontrolltiere zeigten 5 Tage nach der Scheinoperation keine Abweichungen im Verhalten ihrer Enzymaktivitäten und des Proteingehaltes. (Tab. 6).

Scheinoperierte Tiere	U/g Fg.	st.	Normwerte	U/g Fg.	st.
A L D	7,757	0,73		7,793	0,80
GAPDH	106,656	18,18		97,423	16,40
G O T	109,080	15,76		100,059	11,85
G P T	14,059	2,90		14,109	3,52
G L D H	33,936	6,06		35,784	5,64
L D H	309,060	96,96		332,543	51,47
M D H	460,560	90,90		470,902	46,31
S D H	18,422	2,42		16,917	3,01
G-6-PDH	4,121	0,73		4,133	1,85
Extraktprotein	107,4 mg/g Fg.	15,0		111,8 mg/g Fg.	20,1

Tab. 6: Enzymaktivitäten und Proteingehalt scheinoperierter Tiere, 5 Tage nach dem Eingriff.
n = 6. Die Normwerte sind zum Vergleich angegeben.

4. DISKUSSION

=====

4.1 Allgemeines

Die Enzymaktivitäten mit ihrer großen Adaptionsfähigkeit an die Stoffwechselbelange bieten ein günstiges Kriterium für den Ablauf der Regeneration.

Für die eigenen Untersuchungen wurden vorwiegend cytoplasmatische (GPT, LDH, GAPDH, ALD, SDH, G-6-PDH), teilweise mitochondreale und cytoplasmatische (GOT und MDH) und mitochondreale Enzyme (G1DH) gewählt. Sie lassen sich ganz verschiedenen Stoffwechselwegen zuordnen: Aminosäurenstoffwechsel (GOT, GPT, G1DH), Kohlenhydratstoffwechsel (ALD, GAPDH, G-6-PDH, LDH), Zitronensäurezyklus (MDH); die SDH führt Sorbit in den Fruktoseabbau und ist als organspezifisch für die Leber anzusehen. Die Versuchsergebnisse zeigen hinsichtlich der intrazellulären Zuordnung der einzelnen Enzyme keine sicher zu deutenden Gesetzmäßigkeiten. Der Abfall der Aktivitäten kann nur allgemein als Folge einer Organschädigung angesehen werden.

Untersuchungen anderer Autoren hatten nach Teilhepatektomie Stoffwechsel- und morphologische Störungen aufgezeigt. Die Zahl der Mitochondrien und ihr Eiweißgehalt nimmt ab, (s.1.21 und 1.25), der P/O Quotient in den Mitochondrien als Ausdruck der oxydativen Phosphorylierung ist erniedrigt (s. 1.25), an dem für den Eiweißaufbau wichtigen endoplasmatischen Reticulum kommt es zu Umbauvorgängen (s.1.21), der Glucoseabbau ist - wenn auch wohl geringer - gestört (s. 1.24), die Sauerstoffversorgung ist herabgesetzt (s.1.26). Sind diese Veränderungen stark genug ausgeprägt, können sie für sich allein bereits zur Schädigung der Membranintegrität der Zelle und so zum vermehrten Enzymaustritt führen. Es muß dabei offenbleiben, inwieweit neben den schädigungsbedingten Enzymaktivitätsverlusten auch Ab- und Umbauvorgänge eine Rolle spielen. SIMBERT u. MIT. (1961) deuteten den Abfall der Glykolyse und die verminderte Aktivität der damit verbundenen Enzyme im Sinne von LANG, "daß ein im Leben aufrechterhaltener, über den aktuellen Bedarf

hinausgehender Enzymüberschuß unter der Belastung, die der Regenerationsprozeß bedeutet, zugunsten anderer Vorgänge, die dann Vorrang gewinnen, abgebaut wird." FRITZSON (1964) erklärt das "Nachhinken" der Synthese solcher Enzyme, die zum Abbau der Nucleinsäuren nötig sind, bedingt durch einen Konkurrenzkampf um das verfügbare Protein, das vorwiegend der Synthese der zum Aufbau dienenden Enzyme verwandt wird. ÖHLERT u. MIT. (1962) glauben, daß das verbliebene Leberparenchym dem physiologischen Stoffwechsel nicht mehr gewachsen ist. Die einzelne Leberzelle wird überlastet, es kommt zur Zerstörung von Strukturen und zu einer ausgedehnten Einwässerung an den Zellen. Enzymaktivitätsbestimmungen im Serum nach teilweiser Hepatektomie sind nur selten beschrieben worden. Die Aktivität der gemessenen Enzyme steigt dabei an (s.u.). Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß eine gewisse Enzymfreisetzung im Operationsgebiet durch Nekrosen bedingt ist.

Alle Veränderungen sind vorwiegend für die ersten drei bis fünf Tage nach dem Eingriff beschrieben worden. Das stimmt gut mit unseren Versuchsergebnissen überein, die in diesem Zeitraum ihre niedrigsten Werte erreichen. Die Normalisierung ist nach 3 - 6 Wochen abgeschlossen. Ein gewisser Abfall der Enzymaktivitäten ist durch die Ödembildung und den vermehrten Fettgehalt bedingt, da wir unsere Ergebnisse pro g Frischgewicht angegeben haben. Schließlich wird der Enzymabfall auch durch die verminderte Proteinkonzentration erklärt, denn die Enzyme sind Bestandteile dieses löslichen Proteins. Die LDH zeigt als einziges der gemessenen Enzyme einen Anstieg. Hier besteht vielleicht eine Beziehung zu der erhöhten anaeroben Glykolyse (s. 1.24 u. 4.23) und der relativen Hypoxie (s. 1.26). Die Veränderungen der anderen Enzymaktivitäten läßt keine sichere Schlußfolgerung auf spezifische Stoffwechselumstellungen zu, mit Ausnahme der, daß erst nach 3 Wochen nach größerer

Leberresektion mit einer Normalisierung des Leberstoffwechsels zu rechnen ist.

- 4.2 Veränderungen einzelner Enzymaktivitäten und des Extraktproteins nach Teilresektion. Der Zeitraum bis zur völligen Restituierung. Vergleich mit den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen.

4.21 Extraktprotein

Trotz der großen Syntheseleistung fällt der Gehalt an Protein pro Lebergewichtseinheit ab. Eine Netto-synthese findet nicht vor 12 Stunden statt. Lediglich SANCHEZ u. MIT. (1961) geben einen Konzentrationsanstieg für die ersten 24 Stunden an, dem dann aber ein Abfall unter Normwerte folgt. Der Abfall in den ersten Tagen wird mit 10 - 30 % angegeben. Die Wiederherstellung des gesamten Proteingehaltes ist gegenüber der Normalisierung des Gewichtes etwas verzögert. (LANCKER u. SEMPOUX 1958, RINDI u. MIT. 1955, PRICE u. LAIRD 1950, PETERMANN u. MIT. 1953, HARKNESS 1952 u. 1957, BRUES u. MIT. 1936, FERRARI u. HARKNESS 1954, SIEBERT u. MIT. 1961, WEBER u. CANTERO 1959, GURD u. MIT. 1948). Die Zeitangaben bis zur Erreichung der Ausgangslage schwanken. Sie liegt zwischen 7 Tagen (HARKNESS 1952) über 10 - 14 Tage (TSUBOI u. MIT. 1954, BENGMARK u. OLSSON 1967, GURD u. MIT. 1948) bis zu 20 und 23 Tagen (WEBER u. CANTERO 1955, PRICE u. LAIRD 1950). Unsere Werte, auf g Frischgewicht bezogen, haben sich nach 20 Tagen wieder normalisiert. 5 von 19 Tieren haben dann den Ausgangswert überschritten. Genaue Vergleiche sind wegen der Anwendung verschiedener Methoden schwierig. In den meisten Fällen ist der Proteingehalt nach Bestimmung des Stickstoffgehaltes ermittelt worden. Der Abfall der Proteinkonzentration wird zum Teil durch den erhöhten Fettgehalt verursacht sein, zum anderen wird ein großer Teil des neuproduzierten Proteins zum Aufbau von Strukturen verwendet, die wir bei unserer Methode (Bestimmung des löslichen Proteins) nicht erfassen.

4.22 GPT, GOT, G1DH

BENGMARK u. OLSSON (1963, 1964, 1966) haben in einer

ganzen Reihe von Arbeiten das Verhalten der GPT beschrieben. Die Aktivität sinkt bereits am ersten Tag signifikant unter die Ausgangswerte und erreicht Werte von etwas unter 50 % am 4. Tag. Auf diesem Niveau bleibt sie bis zum achten Tag und steigt nach 14 Tagen auf Werte um 75 % der Normaltiere. Die Werte 2, 4 und 5 Wochen nach der Resektion liegen zwar nicht mehr signifikant, aber dennoch deutlich unter den Normwerten, so daß sie als wirklicher Abfall gedeutet werden. Der Anstieg von fünf Wochen bis acht Wochen nach dem Eingriff ist signifikant. Nach 8 Wochen liegen die Werte im Normbereich. Ähnliche Versuche von anderen Autoren mit entsprechend langen Zeitintervallen liegen nicht vor. Berücksichtigt man, daß die Werte von BENGMARK u. OLSSON auf g Trockengewicht bezogen sind, so stimmen unsere Werte sehr gut damit überein. Allerdings erreichen in unserer Serie die Tiere nach 40 Tagen wieder Normwerte. SANCHEZ u. MIT. (1961) geben einen Abfall in den ersten vier Tagen an. RAINA u. RAMAKRISHNAN (1964a) geben für vier Tage nach der Resektion einen Abfall von 420 auf 290 units/g Frischgewicht an. GAVASTO u. MIT. (1957) haben nach 3 Tagen einen Abfall um ca. 20 % gemessen, der jedoch nach zehn Tagen bereits wieder ausgeglichen ist.

Ein grundsätzlich anderes Verhalten wird nur von FORNI u. FILIPAZZI (1964) angegeben. Nach einem Abfall am ersten Tag kommt es zu einem Anstieg über Normwerte am zweiten, vierten und achten Tage postoperativ. Die Autoren haben jedoch nur jeweils drei bis vier Tiere pro Zeitintervall gemessen. NAKATA u. MIT. (1964) geben einen Anstieg pro mg Protein nach ein und zwei Tagen an, nach drei Tagen liegen die Werte wieder im Bereich der Norm. Unklar ist, wie sich der Proteingehalt ändert. In unserer Versuchsserie liegen die prozentualen GPT Werte stets unter denen des Proteins.

Die Serum-GPT ist nach BENGMARK u. OLSSON (1967) zwei Tage postoperativ stark erhöht. Acht Tage nach der Teilresektion erreicht sie Ausgangswerte. Der zu diesem Zeitpunkt noch beträchtliche Abfall der Enzymaktivität in der Leber wird von den Autoren vorwiegend als Abfall der cytoplasmatischen GPT gedeutet. NAKATA u. MIT. geben ein gleichbleibendes Verhältnis von mitochondrieller zu cytoplasmatischer GPT in den ersten 3 Tagen an.

Die Angaben über das Aktivitätsverhalten der GOT widersprechen sich zum Teil und stimmen mit unseren Ergebnissen nicht immer überein. Wir haben keinen signifikanten Abfall feststellen können. Nach 10 Tagen liegt die Enzymaktivität bei vier von 19 Tieren oberhalb der Norm. Nach 1, 2 und 5 Tagen liegen die Mittelwerte unter dem Normwert.

BENGMARK u. OLSSON (1967) geben zwei Tage postoperativ eine kaum veränderte GOT Aktivität an (von 3 Werten liegen jedoch zwei unterhalb der Norm). Nach acht Tagen liegen die Werte unterhalb der Norm und nach 14 Tagen weit gestreut um den Normalwert. NAKATA u. MIT. (1964) geben auf Protein bezogen einen leichten Anstieg für die ersten drei Tage an. Bei SANCHEZ u. MIT. (1961) steigt die GOT im Laufe des ersten Tages, liegt aber nach 24 Stunden etwas unterhalb der Norm. Nach 96 Stunden ist der Gesamtgehalt der Leber an GOT fast wieder restoriert. GREENBAUM u. MIT. (1954) berichten von einem Abfall nach ein und zwei Tagen. Nach drei und sieben Tagen liegen die Werte über der Ausgangsbasis. FORNI u. FILIPAZZI (1964b) maßen einen Abfall nach 24 Stunden. Zwei, vier und acht Tage nach dem Eingriff ist die GOT Aktivität erhöht. Nach GAVASTO (1957) ist die GOT Aktivität drei Tage postoperativ nicht signifikant erhöht, nach 10 Tagen liegen die Werte im Normbereich. RINDI (1955) berichtet von einem Anstieg nach 36 Stunden. Danach fällt die Aktivität ab und hat nach sieben Tagen die Ausgangslage noch nicht wieder erreicht. TISZAI u. TENYI (1960) geben eine Erhöhung nach fünf Tagen an, hatten jedoch zusätzlich eine Choledochusligatur vorgenommen.

Ein gewisser Unterschied dürfte durch die verschiedenen Methoden bedingt sein, die bei den Messungen angewandt wurden. Daneben sind in den meisten Fällen die Messungen nur an sehr wenigen Tieren vorgenommen worden. Nach Messungen von BENGMARK u. OLSSON (1967) kommt es zwei, acht und 14 Tage postoperativ zu einem Abfall der mitochondreal lokalisierten GOT, während die GOT im Cytoplasma nach zwei und 14 Tagen angestiegen ist. Nach acht Tagen liegt die cytoplasmatische GOT im Normbereich. Werden nun beim Homogenisieren die Mitochondrien nicht aufgeschlossen, so kommt es zu erhöhten Werten zwei und 14 Tage postoperativ. NAKATA u. MIT. (1964) geben jedoch ein Gleichbleiben des Verhältnisses von mitochondrealer zu cytoplasmatischer GOT an.

Die Aktivität der Serum GOT ist nach Teilresektion

für eine gewisse Zeit erhöht. (BENGMARK u. OLSSON 1967, DESSI 1957, TISZAI u. TENYI 1960).

Die GLDH ist bisher unseres Wissens nach nur von GREENBAUM u. MIT. (1954) gemessen worden. Die Aktivität liegt in den ersten drei Tagen unterhalb der Ausgangswerte und erreicht ein Minimum mit ca. 70 % der Ausgangswerte, bezogen auf g Frischgewicht. Nach sieben Tagen liegen die Werte im Normbereich. Die Werte für die ersten Tage stimmen gut mit unseren überein. Die frühzeitige Regenerierung scheint deshalb etwas unwahrscheinlich, weil alle anderen mitochondrealen Funktionen noch nicht wieder völlig hergestellt und Zahl und Proteingehalt der Mitochondrien noch erniedrigt sind. (s. 1.21 u. 1.25). Unsere Werte liegen nach 40 Tagen noch deutlich, wenn auch nicht signifikant unterhalb der Ausgangslage. Eine erniedrigte GLDH Aktivität wird auch bei jungen Ratten beschrieben, die ungefähr die Hälfte der Aktivität normaler erwachsener Ratten besitzen. (HIRSCHBERG 1964).

In diesem Zusammenhang seien noch die Ergebnisse einiger anderer Enzyme des Aminosäurenstoffwechsels nach Teilhepatektomie genannt. Die Glutamin Synthetase fällt nach WU (1964) auf Werte ab, die bei ca. 50 % der Ausgangsaktivität liegen. Noch nach 90 Tagen liegt die Aktivität deutlich unterhalb der Norm. Einen ähnlich starken Aktivitätsverlust dieses Enzyms geben RAJNA u. RAMAKRISHNAN (1964) für 96 Stunden nach Teilresektion an. Abgefallen ist zu diesem Zeitpunkt auch die Arginase und die Glutamyltransferase, während die Glutaminase I einen Aktivitätsanstieg aufweist. Einen Abfall der Arginase maßen auch SANCHEZ u. MIT. (1961). Die Tryptophan Peroxidase weist ebenfalls einen Aktivitätsverlust auf. (THOMPSON u. MOSS 1955).

4.23 ALD, GAPDH, LDH, G-6-PDH

Über einen längeren Zeitraum liegen keine Messungen dieser Enzyme vor. SIEBERT u. MIT. (1961) maßen eine Abnahme der ALD nach 24 und 48 Stunden im nicht fraktionierten Gewebe, bezogen auf g Trockengewicht. SANCHEZ u. MIT. (1961) geben einen sehr starken Abfall der ALD auf Proteinbasis für die ersten 24 Stunden an, der aber zum Teil dadurch bedingt ist, daß der Proteingehalt pro Lebergewichtseinheit bei diesen Autoren nach 24 Stunden einen Anstieg aufweist. Nach vier Tagen erreicht die ALD ca. 40 %

des präoperativen Wertes der Gesamtleber, während das Leberfrischgewicht schon ca. 70 % des Ausgangswertes erreicht hat. Daraus ergibt sich also ein Abfall pro Gewichtseinheit. Während diese Ergebnisse mit unseren übereinstimmen, liegen entsprechende Werte bei FORNI u. FILIPAZZI (1964b) in den ersten Tagen oberhalb der Normgrenze und kehren nach 8 Tagen zu Ausgangswerten zurück.

GAPDH zeigt in den ersten Tagen nur unwesentliche Veränderungen und gleicht anderen im Kohlenhydratstoffwechsel gemessenen Enzymen (s.u.). Auffallend ist der signifikante Anstieg nach 40 Tagen. SIEBERT u. MIT. (1961) bestimmten die Triosephosphatdehydrogenase im nichtfraktionierten Gewebe. Sie zeigt nach 26 und 36 Stunden einen Aktivitätsabfall pro Trockengewichtseinheit und kehrt nach 48 Stunden wieder zur Norm zurück. Diese Angaben stimmen mit unseren überein.

Die LDH zeigt als einziges der gemessenen Enzyme eine Erhöhung ihrer Aktivität, die bei unseren Versuchen zwei und fünf Tage postoperativ signifikant ist. Diese Werte stimmen recht gut mit einigen in der Literatur beschriebenen überein. SIEBERT u. MIT. (1961) stellten nach zwei Tagen einen Wert von 126 % zum Ausgangswert fest. (auf Trockengewicht bezogen). WEBER u. CAMTERO (1959) geben nach 24 Stunden einen Anstieg auf Stickstoffgehalt bezogen von 962 auf 1131 Einheiten an, wobei dieser Anstieg jedoch nicht signifikant ist. FORNI u. FILIPAZZI (1964) geben einen Anstieg der LDH nach ein, zwei und vier Tagen an, auch nach acht Tagen liegen die Werte noch oberhalb der Norm. - Histochemische Befunde stimmen - wahrscheinlich aufgrund der völlig verschiedenen Methoden - mit diesen Ergebnissen nicht überein, (THALER 1966, BARTÓK u. MIT. 1963).

RAINA u. RAMAKRISHNAN (1964) stellten bei Messung der G-6-PDH einen geringen Anstieg nach 96 Stunden fest. Nach WEBER u. CAMTERO (1957) verhält sich das Enzym wie das Lebergewicht und erreicht nach 22 Tagen Ausgangswerte, bezogen auf den Gesamtgehalt der Leber.

STEPANOVA (1964) gibt einen leichten Anstieg nach 72 Stunden pro Proteingehalt an. SAKAMATO (1966) berichtet von einem maximalen Anstieg nach zwei Tagen, der dann abfällt und nach 14 Tagen Normwerte erreicht. Unsere Werte zeigen auch eine Normalisierung nach 20 Tagen und die Regenerierung verläuft ziemlich übereinstimmend mit der des Proteingehaltes, zeigt jedoch auf Leberfrischgewichtseinheit einen deutlichen Abfall. Auffallend bei unseren Ergebnissen ist eine sehr große Streubreite. Eine Erhöhung dieses Enzyms wird mit dem gestiegenen Bedarf an Ribosen und NADPH erklärt. Auf der anderen Seite bestehen für Glucose-6-Phosphat vielfältige Möglichkeiten in der Verstoffwechselung: es kann im Emden-Meyerhof-Weg abgebaut werden, es kann für die Gluconeogenese verwandt werden und es kann mittels der Phosphoglucomutase in Glucose-1-Phosphat umgewandelt werden und damit in den Glykogenaufbau geschleust werden, falls es nicht von G-6-PDH oxydiert wird.

Auch andere im Kohlenhydratstoffwechsel gemessene Enzymaktivitäten zeigen nur geringfügige Veränderungen ihrer Aktivität. Sie haben somit nur einen geringen Aussagewert für den Ablauf der Regeneration. Mehrfach bestimmt wurde die Glucose-6-Phosphatase und die Fructose-1-6-Diphosphatase, (WEBER u. CANTERO 1955, 1956, 1957, 1959, RAINA u. RAMAKRISHNAN 1964, DERACHE u. MIT. 1964, DECKEN u. HULTIN 1960, LANCKER u. SEMPOUX 1958, SAKAMATO 1966, GAVASTO u. MIT. 1957). SYDOW (1964) und STEPANOVA (1964) bestimmten die Hexokinaseaktivität. Weiterhin wurden die Enzymaktivitäten der Phosphoglucoisomerase (RAINA u. RAMAKRISHNAN 1964, SAKAMATO 1966, WEBER u. CANTERO 1957), der Phosphoglucomutase (RAINA u. RAMAKRISHNAN 1964, WEBER u. CANTERO 1957) und der Phosphorylase (RAINA u. RAMAKRISHNAN 1964) gemessen.

4.24

M D H

FORNI u. FILIPAZZI (1964) beschreiben einen Abfall nach einem Tag, nach vier Tagen liegen die Werte etwas oberhalb der Norm. NOVIKOFF u. POTTER (1948) maßen einen Abfall von über 20 % nach 24 Stunden und von ca. 30 % nach 48 Stunden. Beide Autoren haben jedoch nur 3 - 4 Tiere je Zeitintervall gemessen. In unserer Versuchsserie erreicht die MDH nach 10 Tagen Normwerte. Vielleicht besteht ein Zusammenhang zwischen der frühzeitigen Regenerierung und dem Abbau des vermehrten Fettgehaltes, der im

Tricarbonsäurezyklus endet.

Auch für andere im Tricarbonsäurezyklus wirkende Enzyme wird ein Aktivitätsabfall angegeben. So für die Fumarase (SANCHEZ u. MIT. 1961), die Succinatdehydrogenase (SANCHEZ u. MIT. (1961), TSUBOI u. MIT. 1954, NELSON u. BURGH 1958, GEAR 1965, NOVIKOFF u. POTTER 1948, PEARSON u. MIT. 1959, HARKNESS 1957, BARTOK u. MIT. 1963), die Isocitratdehydrogenase (SIEBERT u. MIT. 1961) und die NAD-Isocitratdehydrogenase (GEAR 1965).

4.25 S D H

Die Aktivität dieses Enzyms reagiert sehr sensibel auf den Eingriff und liegt nach einem Tag signifikant unter den Normwerten. Nach zehn Tagen hat sie die Ausgangswerte wieder erreicht. 40 Tage postoperativ liegt die Enzymaktivität signifikant über den Ausgangswerten.

4.3 Körper- und Lebergewicht nach Teilhepatektomie

Das Körpergewicht der Ratten nimmt in den ersten Tagen um ca. 10 % ab und erreicht Normwerte nach 10 - 15 Tagen. (BENGMARK u. OLSSON 1963, HIGGINS u. ANDERSON 1931, THOMPSON u. MIT. 1953). JATROPULOS (1965) maß die Differenz zu normal wachsenden Tieren. Nach drei Wochen stimmten die Gewichte beider Tiergruppen überein. Unsere Ergebnisse stimmen mit den genannten überein, der Abfall in den ersten Tagen ist jedoch nicht so ausgeprägt. Bei unseren Versuchen lag das Gewicht nach 10 Tagen noch knapp unter den Ausgangswerten, nach 20 Tagen hatte es die Ausgangslage überschritten. Bedingt durch einen Gewichtsabfall beim 14-16 stündigen Fasten, erreichten diese Tiere mit Nahrungskarenz ihr Ausgangsgewicht bereits nach 10 Tagen wieder.

Das Lebergewicht nimmt in den ersten 5 Tagen stark zu und erreicht gut 80 % des ursprünglichen Gewichtes. In der Literatur werden Werte zwischen 70 und 90 % des Ausgangsgewichtes nach drei bis vier Tagen angegeben. (SANCHEZ u. MIT. 1961, LANCKER u. SEMPOUX 1958, GREENBAUM u. MIT. 1954, PETERMANN u. MIT. 1953, WALTHER 1965). Bei diesen Gewichtszunahmen spielen Ödembildung und Fetteinlagerung eine Rolle. - Die Zeit bis zur Wiederherstellung des präoperativen Lebergewichtes wird unterschiedlich angegeben. Neben Werten von 10 - 20 Tagen (WEBER u. CANTERO 1955, HIGGINS u. ANDERSON 1931, MAROS

und MIT. 1965, TISZAI u. TÉNYI 1960, CLERICI u. MIT. 1964) werden auch Werte von 3 - 4 Tagen (STOWELL 1948, JATROPULOS 1965) und 56 Tagen (BENGMARK u. OLSSON 1963) angegeben. In unserer Versuchsserie liegt das Verhältnis von Leber- zu Körpergewicht 10, 20 und 40 Tage postoperativ bei 3,6, 3,3 und 3,5 %. Da es sich nur unwesentlich ändert, dürfte die Leber nach 10 bis 20 Tagen ihr Ausgangsgewicht wieder erreicht haben. Der etwas niedrigere Wert nach 20 Tagen ist wahrscheinlich durch das höhere Körpergewicht dieser Tiergruppe bedingt.

4.4 Andere Faktoren, die den Regenerationsablauf beeinflussen

Nicht ohne Einfluß auf die Regeneration sind Rasse und Alter der Ratten. Junge Ratten ersetzen verlorengegangenes Gewebe schneller als alte Ratten. Diät und Haltung (Temperatur, Lichtverhältnisse) können ebenfalls Unterschiede hervorrufen. Maßgeblich wird die Regeneration auch von der Größe der Teilresektion beeinflusst. Je weniger Gewebe entfernt wird, desto geringer und verzögelter ist die Reaktion (Lit. bei BUCHER 1963). Da wir mit unserer Methode ca. 50 % reseziert haben, die meisten Arbeiten der Literatur aber eine 2/3 Resektion angeben, sind kleinere Unterschiede hierdurch erklärbar.

4.5 Schlußfolgerungen:

Nach Leberresektion größeren Ausmaßes tritt in den ersten 5 Tagen ein deutlicher Enzymaktivitätsverlust in der Restleber auf. Ein grundsätzlich anderes Verhalten zeigt nur die LDH-Aktivität. Es kommt zu einem Aktivitätsanstieg, der in Beziehung zur gesteigerten anaeroben Glykolyse steht. - In der Folgezeit setzt ein adaptiver Enzymaktivitätsanstieg in der Leber ein. Nach 10 bis 20 Tagen haben sich die Enzymaktivitäten der meisten der von uns gemessenen Enzyme regeneriert, ebenso wie Proteingehalt, Leber- und Körpergewicht. Zwei Enzyme, GPT und G1DH, liegen auch dann noch deutlich unter den Ausgangswerten und zeigen an, daß die Leber nicht alle Funktionen wie präoperativ erfüllt. Anhand dieser beiden Enzyme kann der Ablauf der Regeneration über einen längeren Zeitraum erfaßt werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

=====

An weißen weiblichen Ratten wurde eine Teilresektion der Leber von ca. 50% ausgeführt. Anhand des Verhaltens der Enzymaktivitäten von GPT, GOT, G1DH, GAPDH, ALD, G-6-PDH, LDH, MDH und SDH, sowie des Proteingehaltes in der Restleber wurde der Regenerationsablauf verfolgt. Körper- und Lebergewicht der Ratten wurden ebenfalls bestimmt. Es ergab sich:

1. Es kommt zu einem Abfall der Enzymaktivitäten - ausgenommen die LDH-Aktivität - und des löslichen Proteingehaltes in den ersten Tagen nach dem Eingriff. Die Aktivitätsminderung ist verschieden stark ausgeprägt. Die LDH-Aktivität steigt in den ersten Tagen als Zeichen einer zunehmenden anaeroben Glykolyse an.
2. Während die Aktivitäten der meisten Enzyme und der Proteingehalt nach 20 Tagen Ausgangswerte erreichen, liegen die GPT- und G1DH-Aktivität dann noch deutlich unterhalb der Norm. Beide Enzyme können somit als guter Indikator für den Grad der Regeneration angesehen werden.
3. Die Ergebnisse werden anderen, in der Literatur beschriebenen, Störungen des Stoffwechsels gegenübergestellt.

6.

LITERATURÜBERSICHT

=====

ALLARD, C., G. Lamirande u. A. Cantero: Enzymes and cytological studies in rat hepatoma transplants, primary liver tumors, and in liver following azo dye feeding or partial hepatectomy. *Cancer Res.* 1957, 17, 862

ALLARD, C., G. Lamirande u. A. Cantero: Mitochondrial population of mammalian cells. II. Variation in the mitochondrial population of the average rat liver cell during regeneration. Use of the mitochondrion as a unit of measurement. *Cancer Res.* 1952, 12, 580

ATERMANN, K: Electron microscopy of the rat liver cell after partial hepatectomy. *J. Pathol. Bacteriol.* 1961, 82, 367

ATERMANN, K: Some local factors in the restoration of the rat's liver after partial hepatectomy. II. "Watery vacuolation": its relation to the vacuolation of anoxia. *Arch. Path. (Chicago)* 1952, 53, 209

BADE, E.G.: Beitrag über die Frühstadien der Regeneration der Leber nach Teilhepatektomie und die Ursache des kompensatorischen Wachstums. *Virchow Arch. Path. Anat.* 1964, 337, 503

BADE, E.G.: Bildung von Mitochondrien in der regenerierenden Leber der Maus. *Z. Zellforsch.* 1964, 61, 754

BARTÓK, I., E. Horváth, J. Pocsai u. B. Korpássy: Enzym-histochemische Untersuchungen an normalen und zirrhotischen Rattenlebern nach partieller Hepatektomie. *Path. Microbiol. Basel*, 1963, 26, 415

BECKER, F.F. u. B.P. Lane: Regeneration of the mammalian liver. IV. Evidence on the role of cytoplasmic alterations in preparation for mitosis. *Amer. J. Path.* 1966, 49, 227

BECKER, F.F. u. B.P. Lane: Regeneration of the mammalian liver. I. Auto-Phagocytosis during dedifferentiation of the liver cell in preparation for cell division. *Amer. J. Path.* 1965, 47/5, 783

BEISENHERZ, G., H.J. Boltze, Th. Bücher, R. Czok, K.H. Garbade, E. Meyer-Ahrendt u. G. Pfeleiderer: Diphosphofructaldolase, Phosphoglycerinaldehyddehydrogenase, Glycerophosphatdehydrogenase und Pyruvat-Kinase in der Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang. *Z. f. Naturforschung* 1953, 8, 555

BENACERRAF, B., D. Bilbey, G. Biozzi, B.N. Halpern u. C. Stiefel: The measurement of liver blood flow in partially hepatectomized rats. *J. Physiol.* 1957, 136, 287

BENGMARK, S., R. Ekholm u. R. Olsson: Transaminase Activity in subcellular Fractions of the normal and regenerating rat liver. *Acta hepato-splenol.* 1967, 14, 80

BENGMARK, S. u. R. Olsson: Oxyphenylbutazone and liver regeneration. *Acta Chir. Scand.* 1966, 132, 129

BENGMARK, S., B. Ekman, R. Olsson u. B. Rehnström: Further studies on the effect of testosterone on liver healing after partial hepatectomy in male rats. *Scand. J. Gastroent.* 1966, 1, 106

BENGMARK, S., O. Almersjö u. L. Engevik: Funktionelle Veränderungen nach Hemihepatektomie beim Menschen. *Langen-*

becks Archiv für klinische Chirurgie, 1965, 313, 374

BENGMARK, S. u. R. Olsson: Experimentelle Untersuchungen zur Regeneration der Leber nach Resektion. Langenbecks Archiv für klinische Chirurgie, 1964, 308, 778

BENGMARK, S. u. R. Olsson: Die Wirkung von Vitamin B₁₂ auf die Leberregeneration nach partieller Hepatektomie. Gastroenterologia (Basel) 1963, 100, 75

BENGMARK, S. u. R. Olsson: Effect of testosterone upon liver regeneration. Bull. Soc. int. chir. 1963, 22, 451 (Ref. Zentr. Org. Chir. 181, 81).

BENGMARK, S. u. R. Olsson: Experimental study of liver healing after partial hepatectomy with special regard to the changes in the content of liver glutamic pyruvic transaminase. Acta hepato-splenol. 1963, 10, 282

BENGMARK, S. u. R. Olsson: Influence of sex and testosterone upon liver damage. J. Endocr. 1962, 25, 293

BERNHARD, W. u. C. Rouillier: Close topographical relationship between mitochondria and ergastoplasma of liver cells in a definite phase of cellular activity. J. Biophys. Biochem. Cytol., Suppl. 1956, 2/4, 73

BERNHARD, W.: Exptl. Cell Research Suppl. 1958, 6, 17

BRAUN, G.A., J.B. Marsh u. D.L. Drabkin: Synthesis of plasma albumin and tissue proteins in regenerating liver. Metabolism 1962, 11, 957

BRUES, A.M. u. B.B. MARBLE: An analysis of mitosis in liver restoration. J. Exptl. Med. 1937, 65, 15

BUCHER, N.L.: Uridine phosphate labeling in relation to ribonucleic acid syntheses in early regenerating rat liver. Exp. Molec. Path. 1966, 5, 443

BUCHER, N.L.: Regeneration of mammalian liver. Int. Rev. Cyt. 1963, 15, 245

BUCHER, N.L. u. M.N. Swaffield: Rate of incorporation of (6-¹⁴C) orotic acid into uridine 5-triphosphate and cytidine 5-triphosphate and nuclear ribonucleic acid in regenerating rat liver. Biochim. Biophys. Acta 1965, 108, 551

BÜCHNER, F., W. Oehlert u. H. Noltenius: DNS, RNS und Protein bei der Regeneration und Kanzerisierung im Experiment. Deutsch. Med. Wschr. 1963, 88, 2277

BURK, D. Zit. nach Warburg, O., K. Gawehn, A. Geissler u. S. Lorenz: Über die Umwandlung des embryonalen Stoffwechsels in Krebsstoffwechsel. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 1960, 321, 252

CASSAN, A. u. R. Derache: Nitrogen balance and urinary glyco-protein excretion in the rat during liver regeneration Nutr. Dieta (Basel) 1965, 7, 108

CHRISTENSEN, H.N., J.T. Rothwell, R.A. Sears u. J.A. Streicher: Association between rapid growth and elevated cell concentration of amino acids. II. In regenerating liver after partial hepatectomy in the rat. J. Biol. Chem. 1948, 175, 101

CLERICI, E., P. Cammarono u. P. Mocarelli: Protein synthesis in the early stages of liver regeneration. Experientia 1965, 21, 143

CLERICI, E. u. P. Ciccarone: Crabtree effect and the anaerobic glycolysis of the regenerating rat liver. *Nature* (London) 1965, 207, 762

CLERICI, E., P. Mocarelli u. L. Provini: Rat liver regeneration after partial hepatectomy and sympathetic denervation. *Exp. Molec. Path.* 1964, 3, 569

CLERICI, E., G. Guidotti, G. Sambo u. E. Bazzano: Oxidative phosphorylation and amino acid incorporation into protein in regenerating rat liver. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1960, 105, 377

CRANDALL, M.W., u. D.L. Drabkin: Cytochrome c in regenerating rat liver and its relation to other pigments. *J. Biol. Chem.* 1946, 166, 653

CRUVEILHIER, Zitat nach Popper, H. u. F. Schaffner: *Die Leber, Struktur und Funktion*, Stuttgart, 1961, Thieme-Verlag

DAVIS, J.M.G.: Ultrastructure of rat liver cell cytoplasm during the process of regeneration after partial hepatectomy. *Acta radiol. (Stockh.)* 1962, 58, 17

DECKEN, A. von der u. T. Hultin: The enzymatic composition of rat liver microsomes during liver regeneration. *Exp. Cell. Res.* 1960, 19, 591

DECKEN, A. von der u. T. Hultin: Activity of amino acid activating enzyme systems during liver regeneration. *Acta chem. scand.* 1958, 12, 597

DERACHE, R.: Physiological and biochemical aspects of hepatic regeneration. *Biol. Med. Paris* 1964, 53, 357

DERACHE, R., M.F. Viala u. D. Gaillard: Glycolyse anaérobie dans la phase prémitotique du foie de rat en hypertrophie compensatrice. *C.R. Acad. Sci. (Paris)* 1964, 258, 2409

DERMOTT, MC. jr. W.V., N.J. Greenberger, K.J. Isselbacher u. L. Weber: Major hepatic resection: diagnostic technique and metabolite problems. *Surgery*, 1963, 54, 56

DESSI, P.A. u. A.M. Gianni: Rigenerazione epatica processi di transaminazione. *Sperimentale* 1957, 107, 104

ENGELVIK, L., O. Almersjö u. S. Bengmark: Hemihepatectomy in man. *Acta chir. scand. Suppl.* 1966, 357, 239

ESCHBACH, W. u. R. Hanke: Über den Stoffwechsel wachsenden Lebergewebes nach partieller Hepatektomie und den Versuch, diesen Stoffwechsel durch Follikelhormon zu beeinflussen. *Acta Biol. Med. Germ.* 1958, 1, 49

FERRARI, V. u. R.D. Harkness: Free amino-acids in liver and blood after partial hepatectomy in normal and adrenalectomized rats. *J. Physiol.* 1954, 124, 443

FISCHER, A.: *Physiologie und experimentelle Pathologie der Leber*. Seite 149 u.f. Akademie Verlag, Berlin 1959

FISHBACK, P.C.: A morphologic study of regeneration of the liver after partial removal. *A.M.A. Arch. Pathol.* 1929, 7, 955

FORNI, E. u. A. Filipazzi: Studio di alcuni aspetti della rigenerazione epatica dopo epatectomia parziale. I. Consumo di ossigeno e glicolisi del tessuto rigenerante. *Chir. Pat. Sper.* 1964, 12/7-8, 263

FORNI, E. u. A. Filipazzi: Studio di alcuni aspetti della rigenerazione epatica dopo epatectomia parziale. Chir. Par. Sper. 1964, 12/7-8, 268

FRITZSON, P. Delayed synthesis of uracil-degrading enzymes in regenerating rat liver. Biochim. Biophys. Acta 1964, 91, 374

FRITZSON, P.: 1962, Zit. nach FRITZSON 1964, s.o.

GAVOSTO, F., A. Pileri u. A. Brusca: Increased transaminase activity in the liver after administration of cortisone. Biochim. Biophys. Acta. 1957, 24, 250

GAVOSTO, F., A. Pileri u. V. Vergnano: The effect of cortisone on the Glucose-6-Phosphatase activity in normal and regenerating rat liver. Clin. Chim. Acta 1957, 2, 280

GEAR, A.R.: Some features of mitochondria and fluffy layer in regenerating rat liver. Biochem. J. 1965, 95, 118

GEBELEIN, H. u. H.J. Heite: Statistische Urteilsbildung für Mediziner, Heidelberg 1951, Springer Verlag.

GREENBAUM, A.L., F.C. Greenwood u. R.D. Harkness: Glutamic dehydrogenase and glutamic-aspartic transaminase in regenerating liver of the rat. J. Physiol. 1954, 125, 251

GREENSTEIN, J.P.: Biochemistry of cancer. p. 432, 2. Auflage Academic Press, Inc. 1954, New York.

GRINDLAY, J.H. u. J.L. Bollmann: Regeneration of the liver in the dog after partial hepatectomy. Surg. Gynec. Obst. 1952, 94, 491

GUIDOTTI, G., E. Clerici, G. Sambo u. E. Bazzano: Albumin synthesis in regenerating rat liver cells. Experienta 1959, 15, 55

GURD, F.N., H.M. Vars u. I.S. Ravdin: Composition of the regenerating liver after partial hepatectomy in normal and protein depleted rats. Am. J. Physiol. 1948, 152, 11

HAMMARSTEN, E., S. Åqvist, E.P. Anderson, N.A. Eliasson u. B. Thorell: The turnover of polynucleotides and proteins in regenerating rat liver studies with glycine- 15 N. Acta chem. scand. 1956, 10, 1568

HARKNESS, R.D.: Liver Regeneration. Sci. Basis Med. Ann. Rev. 1961, 236-261

HARKNESS, R.D.: Regeneration of liver. Brit. Med. Bull. London 1957, 13, 87

HARKNESS, R.D.: Changes in the liver of the rat after partial hepatectomy. J. Physiol. 1952, 117, 267

HIGGINS, G.M. u. R.M. Anderson: Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. Arch. path. 1931, 12, 186

HIRSCHBERG, E.: Effects of changes in hormonal and dietary status of rats and mice on the activity of their liver glutamic dehydrogenase. Advances Enzym. Regulat. 1964, 2, 301

HOAGLAND, M.B.: Aspects of control of protein synthesis in normal and regenerating rat liver. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1964, 51, 1184

- HOAGLAND, M.B. 1961: Zit. nach Hoagland 1964 s.o.
- HOLZER, H., J. Haan u. S. Schneider: Zum Mechanismus des anaeroben Glucose- und Fructoseabbaues im Mäuse-Ascites-Carcinom. *Biochem. Z.* 1955, 326, 451
- HRADIL, I., J. Melcka, J. Simek u. K. Lejsek: Report on the structure in electron microscopy of hepatic cells in the state of regeneration. *Rev. Int. Hepat.* 1965, 15, 1119
- HULTIN, T. u. A. von der Decken: The incorporation in vitro of labeled amino acids into the proteins regenerating rat liver. *Exp. Cell. Res.* 1957, 13, 83
- JATROPULOS, M.J.: Nature and course of compensatory liver hypertrophy in rats. *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* 1965, 124, 455
- JORDAN, S.W.: Electron microscopy of hepatic regeneration. *Exp. Molec. Path.* 1964, 3, 183
- KARMEN, A., F. Wroblewski u. J. Ladue: Transaminase activity in human blood. *J. clin. Invest.* 1955, 34, 126
- KRAFT, E. u. H. Stickl.: Vergleichende Messungen des Wachstums der Rattenleber mittels des Meßquadrates und des Leitzschen Integrationsstisches an histologischen Schnitten *Virchow Arch. Path. Anat.* 1954, 324, 650
- KUBOWITZ, F. u. P. Ott: Isolierung und Kristallisation eines Gerinnungsfermentes an Tumoren. *Biochem. Z.* 1943, 314, 94
- LANCKER, J.L. van u. D.G. Sempoux: Regeneration of various cellular components in rat livers after subtotal hepatectomy. *Arch. Bioch.* 1958, 77, 129
- LANG, K. Zit. nach SIEBERT u. MIT. (s.dort).
- LEDUC, E.H.: In C. ROUILLER: The liver, morphology, biochemistry, physiology. New York u. London. Academic Press. Inc. 1964, Vol. II. Seite 68
- LEEVEY, C.M.: Observations in hepatic regeneration in man. *Advances Intern. Med.* 1967, 13, 97
- LEEVEY, C.M. Liver regeneration. *A.M.A. Arch. int. Med.* 1960, 105, 183/966
- MAROS, T., B. Katonai, G. Fodor u. V. Kovács: Die Wirkungen des Selen und des Vitamins E auf die Regeneration der Leber bei Ratten. *Deutsche Z. Verdau. Stoffwechselkr.* 1965, 24, 268
- MEISTER, V. von: Recreation des Lebergewebes nach Abtragung ganzer Leberlappen. *Beitr. path. Anat.* 1894, 15, 1
- MENYHART, J. u. L. Simon: Circulatory events accompanying liver regeneration following partial hepatectomy. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* 1966, 30/2, 169
- NAKATA, Y., T. Suematsu u. K. Sakamoto: Transaminase activities in some rapidly growing tissue. *J. Biochem (Tokyo)* 1964, 55, 199
- NELSON, D.S. u. P.M. de Burgh: Biochemical changes in virus-infected and regenerating mouse liver. *Nature* 1958, 182, 1617
- NOVIKOFF, A.B. u. R. van Potter: Biochemical studies on regenerating liver. *J. biol. Chem.* 1948, 173, 223

OEHLERT, W., W. Hämmerling u. F. Büchner: Der zeitliche Ablauf und das Ausmaß der DNS Synthese in der regenerierenden Leber der Ratte nach Teilhepatektomie. Beitr. Path. Anat. 1962, 126, 91

ORESHNIKOVA, N.A., M.A. Novikova u. G.L. Zhdano: Respiration and oxidative phosphorylation of mitochondria in regenerating liver of rats. Fed. Proc. Transl. Suppl. 1966 25, 485

PACK, G.T., A.H. Islami, J.C. Hubbard u. R.D. Brasfield: Regeneration of human liver after major hepatectomy. Surgery 1962, 52, 617

PALLADINA: Zit. nach CLERICI 1960(s.dort)

PEARSON, B., F. Green u. F. Grosse: Histochemical changes in liver succinic dehydrogenase during rapid growth following partial hepatectomy. Amer. J. Path. 1959, 35, 139

PERKINSON, J.D. u. C.Ch. Irving: The respiratory metabolism of regenerating rat liver. Cancer Res. 1956, 16, 496

PETERMANN, M.L., N.A. Mizen u. M.G. Hamilton: The macromolecular particles of normal and regenerating rat liver. Cancer Res. 1953, 13, 372

PETTINARI, V.: Biologische Probleme der Leberresektion in der experimentellen Chirurgie. Langenbecks Arch. klin. Chir. 1961, 298, 774

PODWYSSOZKI, W. von: Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der Drüsengewebe. Beitr. path. Anat. 1886, 1, 259

PONFICK, E.: Experimentelle Beiträge zur Pathologie der Leber. Virchow Arch. Path. Anat. 1889, 118, 209

POPPER, H. u. F. Schaffner: Die Leber, Struktur und Funktion. Thieme-Verlag, Stuttgart, 1961

POPPER, H. u. F. Schaffner: Progress in Liver Diseases. Volume II. Grune u. Stratton, New York u. London 1965

PRICE, J.M. u. A.K. Laird: A comparison of the intracellular composition of regenerating liver and induced liver tumors. Cancer Res. 1950, 10, 650

RAINA, P.N. u. C.V. Ramakrishnan: Comparative metabolic studies on normal and neoplastic rat liver.

I. u. II: Oncologia (Basel) 1964, 17, 273-284

III. u. IV: Oncologia (Basel) 1964, 18, 9-20

REIFFERSCHIED, M.: Leberresektion. Gastroenterologia 1961, 95, 306

RINDI, G., A. ALLEGRI u. G.F. RIZZOLINI: Il comportamento dell'attività transeminasica nel fegato rigenerante dopo parziale epatectomia. Arch. Fisiol. 1955, 55, 152

RYNCKI, P.V.: Hépatectomies majeures réglées pour affections Parasitaires. Rev. Int. Hépat. 1965, 15, 245

SAKAMATO, K.: Studies on carbohydrate metabolism in liver. Japp Arch. Intern. Med. 1966, 13, 139

SÁNCHEZ, E.Q., G. Soberón, O. Palacios, E. Leo u. M. Kuri: Changes in effective enzyme concentration in the growing rat liver. J. Biol. Chem. 1961, 236, 1607

SCHMIDT, E. u. F.W. Schmidt: Enzymbestimmungen im Serum bei Lebererkrankungen. *Enzymol. biol. clin.* 1963, 3, 1

SIEBERT, G., K.H. Bässler, R. Hannover, E. Adloff u. R. Beyer.: Enzymaktivitäten in isolierten Zellkernen in Abhängigkeit von der mitotischen Aktivität. *Biochem. Z.* 1961, 334, 388

SIMEK, J., J. Mělka, M. Pospíšil u. M. Neradilková: Effect of protracted glucose infusion on the development of early biochemical changes and initiation of regeneration in rat liver after partial hepatectomy. *Physiol. Bohemoslov.* 1965, 14, 366

SIMEK, J. u. J. Sedláček: Effect of glucose administered in vivo or in vitro on the respiratory quotient of rat liver tissue after partial hepatectomy. *Nature (London)* 1965, 207, 761

SIMEK, J.: Přehled změn jaterní tkáně za regenerace po castene hepatektomii se zamerením na zmeny biochemické a regulační vlivy. *Cs. fysiол.* 1965, 14, 436

STAIB, W. u. L.L. Miller: Über den Proteinstoffwechsel bei der Leberregeneration. *Biochem. Z.* 1964, 339, 274

STAIB, W. u. L.L. Miller: Über den Stoffwechsel von L-Phenylalanin-n-C¹⁴ und L-Threonin-nC¹⁴ bei subtotal hepatektomierten Ratten. 1964, 339, 266

STENGER, R.J. u. D.B. Confer: Hepatocellular ultrastructure during liver regeneration after subtotal hepatectomy. *Exp. Molec. Path.* 1966, 5/5, 455

STEPANOVA, N.G. : Hexokinase and Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in cellular fractions of regenerating liver and effect of cortisone. *Fed. Procp Transl. Suppl.* 1964, 23, 965

STOWELL, R.E.: Nucleic acids and cytologic changes in regenerating rat liver. *Arch. Path.* 1948, 46, 164

STREMMEL,: Untersuchungen 1967, nicht veröffentlicht.

SYDOW, G.: Die Hexokinaseaktivität in Homogenaten normaler, regenerierender und präcanceröser Rattenleber sowie in primären und transplantierten Hepatomen. *Acta Biol. Med. Germ.* 1964, 12, 517

SZEGO, C.M. u. S. Roberts: The influence of ovariectomy on the chemical composition of regenerating rat liver. *J. biol. Chem.* 1949, 178, 827

TAKAHASHI, T.: An electron-microscope study on regenerating rat liver induced by partial hepatectomy. *Sapporo Med. J.* 1960, 18, 27

THALER, M.M. u. J.M. Kissane: Quantitative Distribution of lactic dehydrogenase in the regenerating liver lobule of the rat. *J. Histochem. Cytochem.* 1966, 14/6, 495

THOMPSON, R.Y., F.C. Heagy, W.C. Hutchison u. J.N. Davidson: The deoxyribonucleic acid content of the rat cell nucleus and its use in expressing the results of tissue analyses with particular reference to the composition of liver tissue. *J. Biochem.* 1953, 53, 460

THOMPSON, J.F. u. E.M. Moss: Effect of adrenalectomy on tryptophan peroxidase, adenosine deaminase and arginase

content of regenerating rat liver. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 1955, 89, 230

TISZAI, A. u. M. Tényi: Serum and liver glutamate oxalacetate transaminase in hepatectomized rats. Experienta 1960, 16, 116

TSUBOI, K.K., H.O. Yokoyama, U. Stowell u. E. Wilson: The chemical composition of regenerating mouse liver. Arch. Biochem. 1954, 48, 275

TSUKADA, K. u. J. Liebermann: Liver nuclear ribonucleic acid polymerase formed after partial hepatectomy. J. biol. Chem. 1965, 240, 1721

TSUKADA, K. u. J. Liebermann: Metabolism of nucleolar ribonucleic acid after partial hepatectomy. J. biol. Chem. 1964, 239, 1564

TSUKADA, K. u. J. Liebermann: Syntheses of ribonucleic acid by liver nuclear and nucleolar preparation after partial hepatectomy. J. biol. Chem. 1964, 239, 2952

TUNG, T.T. u. QUANG, N.D.: La place de l'Hépatectomie majeure dans la chirurgie d'exérèse du foie. Rev. Int. Hépat. 1965, 15, 245

VIRÁGH, S. u. J. Bartók: An electron microscopic study of the regeneration of the liver following partial hepatectomy. Amer. J. Path. 1966, 49, 825

WALTHER, M.: The effect of hydrochlorothiazide on the rat liver and the modification of liver regeneration following partial hepatectomy. Acta Biol. Med. German. 1965, 15, 245

WARBURG, O., W. Christian u. A. Griese: Wasserstoffübertragendes Co-Ferment, seine Zusammensetzung und Wirkungsweise. Biochem. Z. 282, 1935, 157

WARBURG, O.: Sauerstoffübertragende Fermente. Verlag Dr. W. Sanger. Berlin, 1948

WEBER, G. u. A. Cantero: Fructose-1-6-diphosphatase and lactic dehydrogenase activity in hepatoma and in control human and animal tissues. Cancer Res. 1959, 19, 763

WEBER, G. u. A. Cantero: Glucose-6-phosphate utilization in hepatoma, regenerating and newborn rat liver, and in the liver of fed and fasted normal rats. Cancer Res. 1957, 17, 995

WEBER, G. u. A. Cantero: Studies on glucose-6-phosphate-dehydrogenase in regenerating liver and phosphoglucomutase in Novikoff hepatoma. Proc. Am. Assoc. Cancer Research 1956, 2, 156

WEBER, G. u. A. Cantero: Glucose-6-phosphatase activity in regenerating, embryonic and newborn rat liver. Cancer Res. 1955, 15, 679

WEICHSELBAUM, T.E. 1946: Zit. nach BEISENHERZ u. MIT. 1953 (s. dort)

WEINBRENN, K.: Regeneration of the liver. Gastroenterol. 1959, 37, 657

WROBLEWSKI, F. u. J.S. Ladue: Serum glutamic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc. Soc. Exp. Biol. N.A. 1956, 91, 569

WROBLEWSKI, F. u. J.S. Ladue: Lactic dehydrogenase activity in blood. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1955, 90, 210

WU, C.: Glutamine synthetase. IV. Its formation in rat liver following partial hepatectomy and during repletion. Arch. Biochem. 1964, 106, 402

YOKOYAMA, H.O., M.E. Wilson, K.K. Tsuboi u. R.E. Stowell: Regeneration of mouse liver after partial hepatectomy. Cancer Res. 1953, 13, 80

YOKOYAMA, H.O., K.K. Tsuboi, M.E. Wilson u. R.E. Stowell: Histochemical studies on regenerating mouse liver. Lab. Invest. 1953, 2, 91

Danksagung

Herrn Prof. Dr. M. Schwaiger danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes im Enzymlabor der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg/Lahn. Für die Überlassung des Themas und für zahlreiche nützliche Hinweise und Hilfsbereitschaft sowohl beim experimentellen Teil wie bei der Abfassung der Arbeit, sowie für die Übernahme des Hauptreferates bin ich Herrn Priv.-Doz. Dr. Ch. Herfarth sehr dankbar. Herrn Prof. Dr. H. Oehmig gilt mein Dank für die Übernahme des Korreferates. Schließlich sei der technischen Angestellten Fräulein R. Achelis für ihre Hilfe bei der Einarbeitung im Labor gedankt.

Lebenslauf

Ich wurde am 1. Januar 1940 als Sohn des kaufmännischen Angestellten Erich Plache und seiner Ehefrau Margarete, geb. Schmidt, in Bielefeld geboren.

Nach dem Besuch der Bosse-Realschule und der Einjährigen Höheren Handelsschule, beide in Bielefeld, machte ich von April 1957 bis Oktober 1959 eine kaufmännische Lehre bei den Kochs Adlernähmaschinen Werken AG in Bielefeld. Anschließend war ich bis April 1961 in meiner Lehrfirma als Industriekaufmann in der Exportabteilung tätig.

Von Ostern 1961 bis Ostern 1963 besuchte ich das Staatliche Institut zur Erlangung der Hochschulreife in Oberhausen/Rheinland und bestand dort am 15. März 1963 die Reifeprüfung.

Das Studium der Medizin begann ich im Sommersemester 1963 in Marburg/Lahn. Im Wintersemester 1964/1965 war ich an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt, im Sommersemester 1966 an der Westfälischen Wilhelms-Universität in Münster immatrikuliert. Die übrigen Semester habe ich an der Philipps-Universität in Marburg an der Lahn studiert, dort bestand ich die ärztliche Prüfung am 16. Dezember 1968. Seit dem 1. Februar 1969 bin ich als Medizinalassistent im Ev. Johannes-Krankenhaus in Bielefeld auf der inneren Abteilung tätig.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

- in Frankfurt: Frick, Heinz, Schneider, Seubert, Starck, Wezler, Zahn.
- in Münster: Bornmann, Cramer, Gernet, Giese, Hauss, Hollstein, Hüther, Isfort, Kluge, Kümmel, Loeser, Mai, Menges, Reploh, Schnepfer, Sunder-Platzmann, Wüst.
- in Marburg: Beckmann, Berendes, Bommer, Braun-Falco, Brück, Buchholz, Cleve, Deicher, Delbrück, Dimroth, Dölle, Drawert, Exner, Ganz, Gedigk, Hamm, Hensel, Herfarth, Herrmann, Heuser, Hildebrandt, Jacob, Karlson, Knauff, Lang, Lehmann-Grube, Linneweh, Löhr, Lübbers, Mahr, Mann, Martini, Marx, du Mesnil de Rochemont, Nocke, Petry, Pots, Poetschke, Rodeck, Rohen, Sauer, Schiff, Schirren, Schleyer, Schmid, W., Schmidt, F.W., Schneider, Schwaiger, Seidel, Siegert, Siess, Spiegelberg, Staib, Straub, Streicher, Strohmeyer, Vogt, Walcher, Witzel, Würterle.

